(19)日本国特許庁(JP)

(12)特許公報(B2)

(11)特許番号
特許第7335235号
(P7335235)

(45)発行日　令和5年8月29日(2023.8.29)

(24)登録日　令和5年8月21日(2023.8.21)

(51)国際特許分類		FI		
G01N 35/00 (2006.01)		G01N	35/00	A
G01N 27/62 (2021.01)		G01N	27/62	X
G01N 33/50 (2006.01)		G01N	27/62	D
		G01N	33/50	Z

請求項の数　11　（全42頁）

(21)出願番号　特願2020-520283(P2020-520283)
(86)(22)出願日　平成30年10月4日(2018.10.4)
(65)公表番号　特表2020-537137(P2020-537137A)
(43)公表日　令和2年12月17日(2020.12.17)
(86)国際出願番号　PCT/US2018/054363
(87)国際公開番号　WO2019/074757
(87)国際公開日　平成31年4月18日(2019.4.18)
審査請求日　令和3年8月16日(2021.8.16)
(31)優先権主張番号　62/570,308
(32)優先日　平成29年10月10日(2017.10.10)
(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)
(31)優先権主張番号　62/596,242
(32)優先日　平成29年12月8日(2017.12.8)
最終頁に続く

(73)特許権者　519219977
メタボロン，インコーポレイテッド
アメリカ合衆国　２７５６０　ノースカロライナ、モリスビル、デイビス　ドライブ　６１７、スウィート　１００
(74)代理人　110000855
弁理士法人浅村特許事務所
(72)発明者　ケネディ、アダム
アメリカ合衆国、ノースカロライナ、ダーラム、ビーチ　スロープ　ウェイ　５
審査官　草川　貴史
最終頁に続く

(54)【発明の名称】　非標的質量分析プラットフォームを使用して検出した生化学物質の合理化された分析検証方法

(57)【特許請求の範囲】

【請求項１】

複数分析体アッセイを使用して測定される生化学物質の分析性能を評価する方法であって、

ａ）第１試料における第１生化学物質のレベルの測定値を分析的に検証する工程であって、第１生化学物質は、日内精密度、日間精密度、直線性、検出／定量限界、マトリックス効果、外因性の干渉、キャリーオーバー、回収、安定性又は標準臨床アッセイとの相関を含むリストから選択される３種以上の分析検証条件について分析的に検証される、工程：

ｂ）第２試料の技術複製試料における第２生化学物質のレベルを測定する工程であって、第２生化学物質は、第１生化学物質と構造上又は生化学的に関連し、第１生化学物質と同じ生化学経路からのものである、工程；

ｃ）第２生化学物質についての１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；

ｄ）前記技術複製試料における第２生化学物質の測定されたレベルに基づき、第２生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程であって、前記１種又は複数の性能値が、相関分析（R^2）、％占有、％系統誤差（ＳＥ）、％偏り、％相違、又は％変動係数（ＣＶ）を使用して計算され、％占有は、第２生化学物質が検出される技術複製試料の数に基づく、工程；

ｅ）第２生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）を、第１生化学物質についての前記３種以上の分析検証条件についての採用基準と比較する工程であって、当該採用基準が少なくと

も８０％占有を含む、工程；及び
ｆ）第２生化学物質の計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）が、第１生化学物質についての前記３種以上の分析検証条件についての採用基準に合致するなら、第２生化学物質の分析性能が、許容可能であると決定する工程；及び
ｇ）第２生化学物質の計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）が、第１生化学物質についての前記３種以上の分析検証条件についての採用基準に合致しないなら、第２生化学物質の分析性能が、許容不可能であると決定する工程；
を含む方法。
【請求項２】
複数分析体アッセイを使用して測定される生化学物質の分析性能を評価する方法であって、
ａ）第１試料の技術複製試料における第１生化学物質のレベルを測定する工程であって、第１生化学物質は、別の試料で従前に完全に分析的に検証された１種又は複数の生化学物質と構造上又は生化学的に関連し、前記従前に検証された１種又は複数の生化学物質と同じ生化学経路からのものである、工程；
ｂ）１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出／定量限界（ＬＯＤ／ＬＯＱ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、又は標準臨床アッセイとの相関を含む群から１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；
ｃ）前記技術複製試料における第１生化学物質の測定されたレベルに基づき、第１生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程であって、前記１種又は複数の性能値が、相関分析（R^2）、％占有、％系統誤差（ＳＥ）、％偏り、％相違、又は％変動係数（ＣＶ）を使用して計算され、％占有は、第１生化学物質が検出される技術複製試料の数に基づく、工程；
ｄ）第１生化学物質についての前記１種又は複数の分析検証条件についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）を、従前に検証した１種又は複数の生化学物質についての前記１種又は複数の分析検証条件についての採用基準と比較する工程であって、当該採用基準が少なくとも８０％占有を含む、工程；及び
ｅ）それが、対応する分析検証条件について、採用基準に合致するなら、第１生化学物質の分析性能が、許容可能であると、又はそれが、対応する分析検証条件について、採用基準に合致しないなら、生化学物質の分析性能が、許容不可能であると決定する工程；
を含む方法。
【請求項３】
少なくとも５０種の生化学物質の分析性能が評価される、請求項１～２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項４】
アッセイが、質量分析を含む、請求項１～２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項５】
アッセイが、液体クロマトグラフィー及び質量分析を含む、請求項１～２のいずれか一項に記載の方法。
【請求項６】
前記のうち１種の分析検証条件が日内精密度であり、３０％以下のＣＶである性能値が採用基準に合致する、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項７】
前記のうち１種の分析検証条件が日間精密度であり、３０％以下のＣＶである性能値が採用基準に合致する、請求項１又は２に記載の方法。
【請求項８】
２種の分析検証条件が第２生化学物質について選択される、請求項１に記載の方法。
【請求項９】
前記２種の分析検証条件が日内（１日）精密度及び日間（多日）精密度である、請求項

８に記載の方法。
【請求項１０】
２種の分析検証条件が選択される、請求項２に記載の方法。
【請求項１１】
前記２種の分析検証条件が、日内（１日）精密度及び日間（多日）精密度である、請求項１０に記載の方法。
【発明の詳細な説明】
【背景技術】
【０００１】
代謝プロファイリング（網羅的生化学的プロファイリング）は、アミノ酸、炭水化物、有機酸、脂質、及びヌクレオチド代謝におけるもののような生化学的異常と関連する混乱を調べる巨大なスケールの半定量的方法である。試験は、クロマトグラフィーと質量分析（例えば、ＧＣ－ＭＳ及びＬＣ－ＭＳ／ＭＳ）テクノロジーの組み合わせを使用して、同時に何千もの化合物を分析する。代謝プロファイリングは、例えば、未分化表現型を有する個体についてのスクリーニングツールとして、又は代謝プロセスと関連する遺伝子において疑わしい変異を有する個体における支持的証拠として使用することができる。
【０００２】
例えば、先天性代謝異常（ＩＥＭ）の領域における生化学的スクリーニング研究は、代謝プロファイリングアプローチの臨床的意義及び有用性を示した（Ｍｉｌｌｅｒ，ＭＪら、Ｊ Ｉｎｈｅｒｉｔ Ｍｅｔａｂ Ｄｉｓ．、２０１５年１１月；３８（６）：１０２９～３９頁）。血漿、血清、尿及び脳脊髄液のような試料タイプにおけるヒトメタボロームのスクリーニングは、臨床診断キットにより提供される制限された生化学的分析と比較して、情報価値のある及び新規代謝特性を明らかにした。生化学的表現型を生じる代謝プロファイリングアプローチを使用する能力は、標的化された定量的生化学的アッセイとの組み合わせにおいて使用することができる、異常なレベルの代謝産物の産生を検出するさらなる分析ツールをもたらす。重要なことに、網羅的生化学的プロファイリングは、臨床診断キットにおいて現在モニターされていない生化学物質のレベルを同定、及び測定し、このことは、多種多様な臨床上関連する生化学物質をモニターするためのツールとしての網羅的代謝プロファイリングの有用性を裏付けている。
【０００３】
試験又はアッセイを臨床設定において使用することができるようになるにはまず、ある種の規制要件が満たされなければならない。臨床上の検証及び臨床上の有用性に加えて、分析検証が示されなければならない。臨床適用における使用のため生化学物質を検証する伝特的なアプローチは、例えば、１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出限界（ＬＯＤ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果／生化学物質回収、干渉、及び相関分析による現在使用される標準臨床アッセイとの比較を含む、多数の状態を評価することにより、それぞれの生化学物質の完全な分析検証を必要とする。
【０００４】
網羅的代謝プロファイリングは、健常及び疾患の診断を評価する有用な方法であることが実験的に示されている。しかしながら、生化学物質分析体の分析検証のための全ての検証条件についての代謝プロファイルにおける生化学物質の全てを分析的に検証するプロセスは、極めて多くの時間とリソースを要し、これは、分析検証の法的規制を満たすために広範な分析パラメーターが評価され満足されなければならないことに起因して、臨床設定における代謝プロファイリング方法の使用を制限する。第１の化合物に類似する化学的特徴を有する化合物についての内部標準のレベルに基づく、１種の化合物のレベルの測定を可能にする定量方法が、示唆されている（ＣＬＳＩ、臨床研究室における質量分析：一般的な原理及びガイダンス；承認されたガイドライン、ＣＬＳＩ文書Ｃ５０－Ａ、Ｗａｙｎｅ、ＰＡ：Ｃｌｉｎｉｃａｌ ａｎｄ Ｌａｂｏｒａｔｏｒｙ Ｓｔａｎｄａｒｄｓ Ｉｎｓｔｉｔｕｔｅ；２００７年）。しかしながら、このアプローチは、化合物を正確に定量するための較正基準及び内部標準を必要とする。従って、網羅的代謝プロファイルの分析

検証へのその適用は、代謝テクノロジーを使用して測定される多数の化合物を同時に分析し得る内部標準の数により制限される。

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【０００５】

規定された検証条件を完全に満たすための生化学物質アッセイの分析検証は、制限された数の分析体からなる単一の分析体又は複数の分析体のパネルの定量的アッセイにおいて日常的に行われる。典型的には、複数の分析体のパネルは、５０種未満の分析体からなる。しかしながら、この完全な分析検証アプローチは、何十～何百又は何千もの分析体を含む半定量的な複数の分析体のパネルに適さない。ヒトの健康状態を評価する半定量的な網羅的メタボロミクスアッセイを有用にするために、それぞれの分析体における完全な分析検証を行うことなく、これらのアッセイにおいて測定される多数の分析体を分析的に検証する合理化された方法が、必要とされる。

【課題を解決するための手段】

【０００６】

記載される方法において、アッセイにおける生化学物質の分析性能が、分析検証条件の合理化されたセットを使用して、評価され、検証される。いくつかの実施形態において、生化学物質は、完全に分析的に検証されている別の代謝産物と構造上関連する。いくつかの実施形態において、生化学物質は、完全に分析的に検証されている別の代謝産物と生化学的に関連する。

【０００７】

本発明の態様において、複数分析体アッセイを使用して測定される生化学物質の分析性能を評価する方法は、試料における第１生化学物質のレベルの測定を分析的に検証する工程であって、第１生化学物質は、日内精密度、日間精密度、直線性、検出限界（又は定量限界）、マトリックス効果、外因性の干渉、回収、安定性、キャリーオーバー、及び標準臨床アッセイを使用して得られる測定値との比較（すなわち、それとの相関）を含むリストから選択される複数の分析検証条件について分析的に検証されている（すなわち、採用基準である「参照値」について確立された値と合致するか、又は上回る）、行程；試料における第２生化学物質のレベルを測定する工程であって、第２生化学物質は、第１生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；第２生化学物質の測定されたレベルに基づき、第２生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件についての性能値を決定するか、又は計算する工程；第１生化学物質についての分析検証条件の決定された、又は計算された性能値を、第２生化学物質についての分析検証条件の決定された、又は計算された性能値と比較する工程；第２生化学物質の計算された性能値が、分析検証条件についての採用基準に合致するなら、第２生化学物質の性能を許容可能であると決定する工程、及び第２生化学物質の計算された性能値（単数又は複数）が、分析検証条件についての採用基準に合致し、ないなら、第２生化学物質の分析性能を許容不可能であると決定する工程を含む。

【０００８】

第１の態様の１つの実施形態において、第２生化学物質の計算された性能値（単数又は複数）が、第１生化学物質についての値の５０％内であるなら、第２生化学物質の分析性能は許容可能であると決定され、第２生化学物質の計算された性能値（単数又は複数）が第１生化学物質についての値の５０％内でないなら、第２生化学物質の分析性能は許容不可能であると決定される。別の実施形態において、第２生化学物質の計算された性能値（単数又は複数）が第１生化学物質についての値（単数又は複数）の７０％内であるなら、第２生化学物質の分析性能は許容可能であると決定され、第２生化学物質の計算された性能値（単数又は複数）が第１生化学物質の値（単数又は複数）の７０％内でないなら、第２生化学物質の分析性能は許容不可能であると決定される。

【０００９】

いくつかの実施形態において、第１生化学物質は２種以上の分析検証条件について分析

的に検証される。他の実施形態において、第１生化学物質は、３種以上、４種以上、５種以上、６種以上、７種以上、８種以上、９種以上、若しくは１０種以上、又は全ての分析検証条件について分析的に検証される。

【００１０】

なお別の実施形態において、２種の分析検証条件が第２生化学物質のため選択される。この実施形態の特性において、２種の条件は、日内（１日）精密度及び日間（多日）精密度であってもよい。本実施形態の別の態様において、性能採用基準について計算された性能値は、％占有（ｆｉｌｌ）及び％ＣＶを含む。

【００１１】

本発明の第２の態様において、複数分析体アッセイを使用して測定された生化学物質の性能を評価する方法が提供される。方法は、試料における生化学物質のレベルを測定する工程であって、生化学物質は、完全に分析的に検証されている（すなわち、分析検証条件の全てについて採用基準に合致する）１種又は複数の生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出又は定量限界（ＬＯＤ、ＬＯＱ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、及び標準臨床アッセイとの相関からなる群から選択される１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；試料における生化学物質の測定されたレベルに基づき、生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件についての性能値（単数又は複数）を計算する工程；生化学物質についての１種又は複数の分析検証条件について計算された性能値（単数又は複数）を、１種又は複数の分析検証条件についての採用基準と比較する工程；及びそれが、対応する分析検証条件についての採用基準に合致するなら、生化学物質の分析性能は、許容可能であると、又はそれが、対応する分析検証条件についての採用基準に合致し、ないなら、生化学物質の分析性能は、許容不可能であると決定する工程を含む。

【００１２】

本発明の第３の態様において、アッセイを使用して測定された生化学物質の性能を評価する方法は、試料における生化学物質のレベルを測定する工程であって、生化学物質は、表１又は表２において挙げられる１種又は複数の生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出又は定量限界（ＬＯＤ、ＬＯＱ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、及び標準臨床アッセイとの比較（それとの相関）を含む群から１種又は複数の分析検証条件を選択する工程、試料における生化学物質の測定されたレベルに基づき、生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件についての性能値を決定するか、又は計算する工程、生化学物質についての１種又は複数の分析検証条件の計算された性能値を、１種又は複数の分析検証条件についての採用基準についての参照値と比較する工程、分析性能値が、対応する分析検証条件についての採用基準についての参照値と合致するか、又は超えるなら、生化学物質の分析性能は、許容可能であると、又はそれが、対応する分析検証条件についての採用基準参照値と合致しないなら、生化学物質の分析性能は、許容不可能であると決定する工程を含む。

【００１３】

本態様の１つの実施形態において、少なくとも５０種の生化学物質の分析性能が単一の複数分析体アッセイにおいて評価される。別の実施形態において、少なくとも１００種の生化学物質の分析性能が単一の複数分析体アッセイにおいて評価される。なお別の実施形態において、少なくとも１５０種の生化学物質の分析性能が単一の複数分析体アッセイにおいて評価される。さらなる実施形態において、少なくとも２００種の生化学物質の分析性能が単一の複数分析体アッセイにおいて評価される。さらなる実施形態において、少なくとも５００種の生化学物質の分析性能が単一の複数分析体アッセイにおいて評価される。なおさらなる実施形態において、少なくとも１０００種の生化学物質の分析性能が単一の複数分析体アッセイにおいて評価される。

【００１４】

本態様の１つの実施形態において、複数分析体アッセイは、少なくとも５０種の生化学物質で構成される。別の実施形態において、複数分析体アッセイは少なくとも１００種の生化学物質で構成される。なお別の実施形態において、複数分析体アッセイは少なくとも１５０種の生化学物質で構成される。さらなる実施形態において、複数分析体アッセイは少なくとも２００種の生化学物質で構成される。さらなる実施形態において、複数分析体アッセイは、少なくとも５００種の生化学物質で構成される。なおさらなる実施形態において、複数分析体アッセイは少なくとも１０００種の生化学物質で構成される。

【００１５】

別の実施形態において、分析検証条件についての性能採用基準は、相関分析（R^2）、％占有、％系統誤差（ＳＥ）、％偏り、％相違、及び％変動係数（ＣＶ）を含む群から選択される。この実施形態の特性において、分析検証条件が％占有であるとき、少なくとも８０％の性能値が、採用基準に合致する。

【００１６】

態様の特性において、１種又は複数のうち１種の選択された分析検証条件は日内精密度である。態様の別の特性において、１種又は複数のうち１種の選択された分析検証条件は、日間精密度である。これらの特性において、３０％以下のＣＶである性能値が採用基準に合致する。さらに、これらの特性において、２５％以下のＣＶである性能値が採用基準に合致する。

【００１７】

第２及び第３の態様の１つの実施形態において、２種の分析検証条件が選択される。この実施形態の特性において、２種の分析検証条件は日内（１日）精密度及び日間（多日）精密度である。この実施形態の別の特性において、分析検証条件は日内精密度であり、生化学物質についての３０％以下のＣＶである計算された値は許容可能な性能であると決定される。さらなる特性において、分析検証条件は日内精密度であり、生化学物質についての２５％以下のＣＶである計算された値は許容可能な性能であると決定される。なお別の特性において、分析検証条件は日間精密度であり、生化学物質についての３０％以下のＣＶである計算された値は許容可能な性能であると決定される。なおさらなる特性において、分析検証条件は日間精密度であり、生化学物質についての２５％以下のＣＶである計算された値は許容可能な性能であると決定される。

【００１８】

態様の特性において、アッセイは質量分析を含む。さらなる特性において、アッセイは液体クロマトグラフィー及び質量分析を含む。なお別の特性において、試料は、血漿、血清、尿、又はＣＳＦ試料を含む。

本発明の一態様を以下に示す。

［発明１］

複数分析体アッセイを使用して測定される生化学物質の分析性能を評価する方法であって、

ａ）試料における第１生化学物質のレベルの測定値を分析的に検証する工程であって、第１生化学物質は、日内精密度、日間精密度、直線性、検出限界、マトリックス効果、外因性の干渉、キャリーオーバー、又は標準臨床アッセイとの相関を含むリストから選択される３種以上の分析検証条件について分析的に検証されている、行程；

ｂ）試料における第２生化学物質のレベルを測定する工程であって、第２生化学物質は、第１生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；

ｃ）１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；

ｄ）第１生化学物質の測定されたレベルに基づき、第１生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程；

ｅ）第２生化学物質の測定されたレベルに基づき、第２生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程；

ｆ）第１生化学物質についての分析検証条件について計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）を、第２生化学物質についての分析検証条件について計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）と比較する工程；
ｇ）第２生化学物質についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）が、第１生化学物質についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）の５０％内であるなら、第２生化学物質の性能が許容可能であると決定する工程；及び
ｈ）第２生化学物質についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）が、第１生化学物質についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）の５０％内でないなら、第２生化学物質の性能が許容不可能であると決定する工程；
を含む方法。
［発明２］
少なくとも５０種の生化学物質の性能が単一アッセイにおいて評価される、発明１に記載の方法。
［発明３］
少なくとも１００種の生化学物質の性能が単一アッセイにおいて評価される、発明１に記載の方法。
［発明４］
少なくとも１５０種の生化学物質の性能が単一アッセイにおいて評価される、発明１に記載の方法。
［発明５］
少なくとも２００種の生化学物質の性能が単一アッセイにおいて評価される、発明１に記載の方法。
［発明６］
少なくとも５００種の生化学物質の性能が単一アッセイにおいて評価される、発明１に記載の方法。
［発明７］
少なくとも１０００種の生化学物質の性能が単一アッセイにおいて評価される、発明１に記載の方法。
［発明８］
前記１種又は複数の分析検証条件についての前記１種又は複数の性能値が、％占有及び／又は％ＣＶを含む、発明１に記載の方法。
［発明９］
２種の分析検証条件が第２生化学物質について選択される、発明１に記載の方法。
［発明１０］
前記２種の分析検証条件が日内（１日）精密度及び日間（多日）精密度である、発明９に記載の方法。
［発明１１］
アッセイが、質量分析を含む、発明１に記載の方法。
［発明１２］
アッセイが、液体クロマトグラフィー及び質量分析を含む、発明１に記載の方法。
［発明１３］
試料が、血漿、血清、尿、又はＣＳＦ試料を含む、発明１に記載の方法。
［発明１４］
アッセイを使用して測定された生化学物質の性能を評価する方法であって、
ａ）試料における生化学物質のレベルを測定する工程であって、生化学物質は、表１又は表２に挙げられる１種又は複数の生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；
ｂ）１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出限界（ＬＯＤ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、及び標準臨床アッセイとの相関からなる群から１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；
ｃ）試料における生化学物質の測定されたレベルに基づき、生化学物質についての選択

された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程；
ｄ）生化学物質についての前記１種又は複数の分析検証条件についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）を、前記１種又は複数の分析検証条件についての１種又は複数の採用基準と比較する工程；
ｅ）前記１種又は複数の分析検証条件についての生化学物質の計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）が、前記１種又は複数の採用基準の７０％内であるなら、生化学物質の性能が、許容可能であると決定する工程；及び
ｆ）前記１種又は複数の分析検証条件についての生化学物質の計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）が、前記１種又は複数の採用基準の７０％内でないなら、生化学物質の性能が、許容不可能であると決定する工程；
を含む方法。
［発明１５］
２種の分析検証条件が選択される、発明１４に記載の方法。
［発明１６］
前記２種の分析検証条件が、日内（１日）精密度及び日間（多日）精密度である、発明１５に記載の方法。
［発明１７］
分析検証条件が日内精密度であり、生化学物質についての３０％以下のＣＶである計算された性能値が、許容可能な性能であると決定される、発明１４に記載の方法。
［発明１８］
分析検証条件が日内精密度であり、生化学物質についての２０％以下のＣＶである計算された性能値が、許容可能な性能であると決定される、発明１４に記載の方法。
［発明１９］
分析検証条件が日間精密度であり、生化学物質についての３０％以下のＣＶである計算された性能値が、許容可能な性能であると決定される、発明１４に記載の方法。
［発明２０］
分析検証条件が日間精密度であり、生化学物質についての２０％以下のＣＶである計算された性能値が、許容可能な性能であると決定される、発明１４に記載の方法。
［発明２１］
アッセイを使用して測定された生化学物質の性能を評価する方法であって、
ａ）試料における生化学物質のレベルを測定する工程であって、生化学物質は、完全に分析的に検証されている１種又は複数の生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；
ｂ）１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出限界（ＬＯＤ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、及び標準臨床アッセイとの相関からなる群から選択される１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；
ｃ）試料における生化学物質の測定されたレベルに基づき、生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程；
ｄ）生化学物質についての前記１種又は複数の分析検証条件についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）を、前記１種又は複数の分析検証条件についての１種又は複数の採用基準と比較する工程；
ｅ）前記１種又は複数の分析検証条件についての生化学物質の前記１種又は複数の計算された性能値（単数又は複数）が、採用基準の７０％内であるなら、生化学物質の性能が、許容可能であると決定する工程；及び
ｆ）前記１種又は複数の分析検証条件についての生化学物質の前記１種又は複数の計算された性能値（単数又は複数）が、採用基準の７０％内でないなら、生化学物質の性能が、許容不可能であると決定する工程；

を含む方法。
［発明２２］
複数分析体アッセイを使用して測定される生化学物質の分析性能を評価する方法であって、
ａ）試料における第１生化学物質のレベルの測定値を分析的に検証する工程であって、第１生化学物質は、日内精密度、日間精密度、直線性、検出／定量限界、マトリックス効果、外因性の干渉、キャリーオーバー、回収、安定性又は標準臨床アッセイとの相関を含むリストから選択される３種以上の分析検証条件について分析的に検証される、行程：
ｂ）試料における第２生化学物質のレベルを測定する工程であって、第２生化学物質は、第１生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；
ｃ）第２生化学物質についての１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；
ｄ）第２生化学物質の測定されたレベルに基づき、第２生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程；
ｅ）第２生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）を、第１生化学物質についての前記３種以上の分析検証条件についての採用基準と比較する工程；及び
ｆ）第２生化学物質の計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）が、第１生化学物質についての前記３種以上の分析検証条件についての採用基準に合致するなら、第２生化学物質の分析性能が、許容可能であると決定する工程；及び
ｇ）第２生化学物質の計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）が、第１生化学物質についての前記３種以上の分析検証条件についての採用基準に合致し、ないなら、第２生化学物質の分析性能が、許容不可能であると決定する工程；
を含む方法。
［発明２３］
複数分析体アッセイを使用して測定される生化学物質の分析性能を評価する方法であって、
ａ）試料における生化学物質のレベルを測定する工程であって、生化学物質は、従前に完全に分析的に検証された１種又は複数の生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；
ｂ）１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出／定量限界（ＬＯＤ／ＬＯＱ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、又は標準臨床アッセイとの相関を含む群から１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；
ｃ）試料における生化学物質の測定されたレベルに基づき、生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程；
ｄ）生化学物質についての前記１種又は複数の分析検証条件についての計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）を、従前に検証した１種又は複数の生化学物質についての前記１種又は複数の分析検証条件についての採用基準と比較する工程；及び
ｅ）それが、対応する分析検証条件について、採用基準に合致するなら、生化学物質の分析性能が、許容可能であると、又はそれが、対応する分析検証条件について、採用基準に合致し、ないなら、生化学物質の分析性能が、許容不可能であると決定する工程；
を含む方法。
［発明２４］
複数分析体アッセイを使用して測定される生化学物質の分析性能を評価する方法であって、
ａ）試料における生化学物質のレベルを測定する工程であって、生化学物質が表１又は表２に挙げられる１種又は複数の生化学物質と構造上又は生化学的に関連する、行程；
ｂ）１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出／定量限界（ＬＯＤ

／ＬＯＱ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、又は標準臨床アッセイとの相関を含む群から１種又は複数の分析検証条件を選択する工程；
ｃ）試料における生化学物質の測定されたレベルに基づき、生化学物質についての選択された１種又は複数の分析検証条件について１種又は複数の性能値（単数又は複数）を計算する工程；
ｄ）生化学物質についての前記１種又は複数の分析検証条件の計算された１種又は複数の性能値（単数又は複数）を、表１又は表２に挙げられる前記１種又は複数の生化学物質についての前記１種又は複数の分析検証条件についての採用基準と比較する工程；及び
ｅ）それが、対応する１種又は複数の分析検証条件について、採用基準に合致するなら、生化学物質の分析性能が、許容可能であると、又はそれが、対応する１種又は複数の分析検証条件について、採用基準に合致し、ないなら、生化学物質の分析性能が、許容不可能であると決定する工程；
を含む方法。
［発明２５］
少なくとも５０種の生化学物質の分析性能が評価される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明２６］
少なくとも１００種の生化学物質の分析性能が評価される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明２７］
少なくとも１５０種の生化学物質の分析性能が評価される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明２８］
少なくとも２００種の生化学物質の分析性能が評価される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明２９］
少なくとも５００種の生化学物質の分析性能が評価される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明３０］
少なくとも１０００種の生化学物質の分析性能が評価される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明３１］
複数分析体アッセイが質量分析を含む、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明３２］
複数分析体アッセイが液体クロマトグラフィー及び質量分析を含む、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明３３］
試料が、血漿、血清、尿、又はＣＳＦ試料を含む、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明３４］
前記１種又は複数の分析検証条件についての前記１種又は複数の性能値が、相関分析（R^2）、％占有、％系統誤差（ＳＥ）、％偏り、％相違、又は％変動係数（ＣＶ）を使用して計算される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明３５］
前記１種又は複数のうち１種の分析検証条件が日内精密度であり、３０％以下のＣＶである性能値が採用基準に合致する、発明３４に記載の方法。
［発明３６］
前記１種又は複数のうち１種の分析検証条件が日内精密度であり、２５％以下のＣＶで

ある性能値が採用基準に合致する、発明３４に記載の方法。
［発明３７］
前記１種又は複数のうち１種の分析検証条件が日間精密度であり、３０％以下のＣＶである性能値が採用基準に合致する、発明３４に記載の方法。
［発明３８］
前記１種又は複数のうち１種の分析検証条件が日間精密度であり、２５％以下のＣＶである性能値が採用基準に合致する、発明３４に記載の方法。
［発明３９］
少なくとも８０％占有の性能値が採用基準に合致する、発明３４に記載の方法。
［発明４０］
２種の分析検証条件が第２生化学物質について選択される、発明２２に記載の方法。
［発明４１］
前記２種の分析検証条件が日内（１日）精密度及び日間（多日）精密度である、発明４０に記載の方法。
［発明４２］
２種の分析検証条件が選択される、発明２３又は発明２４に記載の方法。
［発明４３］
前記２種の分析検証条件が、日内（１日）精密度及び日間（多日）精密度である、発明４２に記載の方法。
［発明４４］
複数分析体アッセイが、少なくとも５０種の生化学物質で構成される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明４５］
複数分析体アッセイが、少なくとも１００種の生化学物質で構成される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明４６］
複数分析体アッセイが、少なくとも１５０種の生化学物質で構成される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明４７］
複数分析体アッセイが、少なくとも２００種の生化学物質で構成される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明４８］
複数分析体アッセイが、少なくとも５００種の生化学物質で構成される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
［発明４９］
複数分析体アッセイが、少なくとも１０００種の生化学物質で構成される、発明２２から２４までのいずれか一項に記載の方法。
【発明を実施するための形態】
【００１９】
定義
ここで使用される「生化学物」、「化合物」、「小分子」、「代謝産物」、「分析体」は、細胞内に存在する有機分子及び無機分子を意味する。この用語は、大きな高分子、例えば大きなタンパク質（例えば、分子量が２，０００、３，０００、４，０００、５，０００、６，０００、７，０００、８，０００、９，０００、又は１０，０００を超えるタンパク質）、大きな核酸（例えば、分子量が２，０００、３，０００、４，０００、５，０００、６，０００、７，０００、８，０００、９，０００又は１０，０００を超える核酸）、又は大多糖類（例えば、２，０００、３，０００、４，０００、５，０００、６，０００、７，０００、８，０００、９，０００、又は１０，０００を超える分子量を有する多糖類）は含まない。細胞の小分子は、一般に、細胞質又はミトコンドリアなどの他の細胞小器官の溶液中に遊離して見出され、中間体のプールを形成し、さらに代謝され得る

か、高分子と呼ばれる大きな分子を生成するために使用できる。「小分子」という用語は、食物由来のエネルギーを使用可能な形態に変換する化学反応におけるシグナル伝達分子及び中間体を含む。小分子の非限定的な例には、糖、脂肪酸、アミノ酸、ヌクレオチド、細胞プロセス中に形成される中間体、及び細胞内に見出される他の小分子が含まれる。

【００２０】

「経路」は、互いに結び付けられる一連の工程又は反応を定義するために一般的に使用される用語である。例えば、生化学的経路による、１つの反応の産物が、続く反応の基質である。生化学反応は必ずしも一次的であるわけではない。むしろ、用語、生化学的経路は、生合成及び触媒反応を含む、代謝に関与する互いに関連する生化学反応のネットワークを含むと解される。モディファイヤーを含まない「経路」は、「スーパーパスウェイ」及び／又は「サブパスウェイ」を指し得る。「スーパーパスウェイ」は広範なカテゴリーの代謝を指す。「サブパスウェイ」はより広い経路の任意のサブセットを指す。例えば、グルタミン酸代謝はアミノ酸代謝生化学スーパーパスウェイのサブパスウェイである。同じ生化学経路における代謝産物は「生化学的に関連する」として言及される。

【００２１】

「網羅的代謝プロファイリング」又は「網羅的生化学プロファイリング」は、試料における生化学物質のレベルをアッセイする方法を指す。方法は、試料における何百もの生化学物質のレベルを測定し、これにより、生化学物質のスクリーニングをもたらす。方法はまた、「アッセイ」として一般に言及されてもよい。

【００２２】

「試験試料」は、分析されるべき試料を意味する。

【００２３】

「参照試料」は、小分子のレベルについての標準範囲を決定するために使用される試料を意味する。「参照試料」は、個々の試料を指してもよい。試料は年齢及び性別が試験対象と酷似するよう選択され得る、個々の参照対象（例えば、正常（健常）参照対象又は疾患参照対象）由来であってもよい。「参照試料」はまた、個々の参照対象についての参照試料由来のプールされたアリコートを含む試料を指してもよい。

【００２４】

「正確さ」は、実際の生化学物質の同定及び測定されている量の相対レベルと一致する測定の能力を指す。

【００２５】

「精密度」は一貫して再現される測定の能力を指す。

【００２６】

「分析検証」は以下の評価プロセスを指す。すなわち、分析手法又はアッセイが、それが、例えば、１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出又は定量限界（ＬＯＤ、ＬＯＱ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、及び標準臨床アッセイとの相関のような、性能特徴についての採用基準に合致するか又は上回ることにより分析手法又はアッセイがその意図される目的に適していることを示すことが前記分析手法又はアッセイによってなされる、評価プロセスを指す。性能特徴はまた、性能条件として本明細書において言及される。採用基準は、標的値及び標的値周囲の採用限度と関連する。採用基準についての参照値は、採用標的値周囲の採用限度により決定される範囲である。例えば、標的値は、標準偏差（ＳＤ）０．５及び採用限度＋／－１．５を有する、１２であってもよい。この例において、参照値は、１０．５～１３．５の範囲にあり、その範囲内の値は、採用基準に合致する。

【００２７】

「変異係数」又は「ＣＶ」は、複数の試料における生化学物質の平均に対する、複数の試料において測定される生化学物質の標準偏差の比を指す。比は、典型的には、パーセンテージ（％ＣＶ）として提示される。

【００２８】

「偏り」は、試験結果の予想と許容される参照値の間の差を指す（干渉試験の場合では

、「許容される値」は、干渉の不存在下での同じ測定手法の結果であることに注意）。
【００２９】
本明細書において使用される「検出限界」又は「ＬＯＤ」又は「定量限界」又は「ＬＯＱ」は、正確な値として必ずしも定量されないが、所定の確率で検出され得る試料における分析体の最小量を指す。これはまた、「最小の検出可能な濃度」と呼ばれ、時に、試験の実行感度を示すために使用される。用語は、本明細書において互換的に使用され得る。
【００３０】
「回収」は分析システムにより検出され得る試料に存在する物質の量を指す。通常、これはパーセント回収として言及される。１００％の回収が存在するシステムは、完全に正確である。
【００３１】
詳細な説明
複数の生化学物質の合理化された分析検証を行う方法が本明細書において記載される。複数分析体アッセイ（例えば、網羅的メタボロミクスアッセイ）を使用して、生化学物質の性能を評価する工程を、当該方法は含む。この網羅的メタボロミクスアプローチにおいて、多様な生化学経路を表す、生化学物質の選択されたサブセットは、例えば、米国食品医薬品局又は欧州医薬品庁（ＥＭＡ）のような、規制当局により必要とされる分析検証条件について分析的に検証される（すなわち、完全に分析的に検証される）。分析検証条件の合理化されたセットを使用して、完全な分析検証プロトコールにおいて直接試験されない他の生化学的又は構造上関連する生化学物質の性能が、評価され、分析的に検証され得る。一般に、合理化された性能条件を使用して評価される生化学物質は、完全に分析的に検証された１種又は複数の生化学物質と構造上又は生化学的に関連する。
【００３２】
本明細書において記載される網羅的メタボロミクスプロファイリングアッセイ方法は、分子量が約５０ダルトン（Ｄａ）～約１，５００Ｄａの小分子を同定する。小分子の同一性は、それらを生化学物質ライブラリーと比較することにより決定される。ライブラリー（４，０００種を超える生化学物質を現在含有する）は、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳ方法を使用して分析されるそれぞれの化合物についての精製された確実な化学標準を使用して構築された。ライブラリーはそれぞれの分子の化合物特異的特性を含み、それは将来の試料における化合物を同定するために使用される。ライブラリーは、それぞれの分子について、例えば、付加物に関する情報、受託断片化、重合作用、クロマトグラフィー保持時間、及び質量スペクトル断片化パターンを含むが、これらに限定されない、分子量／質量及び分析特徴（特性）を含有する。
【００３３】
生化学物質は、例えば、アミノ酸；ペプチド；炭水化物；エネルギー；脂質；複合脂質；ヌクレオチド；補助因子及びビタミン；並びに生体異物を含むスーパーパスウェイにグループ分けされてもよい。生化学物質はまた、例えば、グリシン、セリン及びスレオニン代謝；アラニン及びアスパラギン酸代謝；グルタミン酸代謝；ヒスチジン代謝；リシン代謝；フェニルアラニン及びチロシン代謝；トリプトファン代謝；ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝；メチオニン、システイン、ＳＡＭ及びタウリン代謝；尿素サイクル；アルギニン及びプロリン代謝；クレアチン代謝；ポリアミン代謝；グアニジノ及びアセタミド代謝；グルタチオン代謝；フェリニン代謝；ガンマ－グルタミルアミノ酸；ジペプチド誘導体；ジペプチド；ポリペプチド；フィブリノゲン切断ペプチド；解糖、糖新生、及びピルビン酸代謝；解糖、糖新生、及びピルビン酸代謝；ペントースリン酸経路；ペントース代謝；グリコーゲン代謝；二糖及びオリゴ糖；フルクトース、マンノース及びガラクトース代謝；ヌクレオチド糖；アミノ糖代謝；終末糖化産物；ＴＣＡ回路；酸化的リン酸化；短鎖脂肪酸；中鎖脂肪酸；長鎖脂肪酸；ポリ不飽和脂肪酸（ｎ３及びｎ６）；定量的遊離脂肪酸；脂肪酸、分岐；脂肪酸、ジカルボキシラート；脂肪酸、メチルエステル；脂肪酸、エステル；脂肪酸、アミド；脂肪酸、ケト；脂肪アルコール、長鎖；脂肪酸合成；脂肪酸代謝；脂肪酸代謝（又は、ＢＣＡＡ代謝）；脂肪酸代謝（アシルグリシン）；脂肪酸

代謝（アシルカルニチン）；カルニチン代謝；ケトン体；神経伝達物質；脂肪酸、モノヒドロキシ；脂肪酸、ジヒドロキシ；脂肪酸、酸化；エイコサノイド；エンドカンナビノイド；イノシトール代謝；リン脂質代謝；リゾ脂質；グリセロ脂質代謝；モノアシルグリセロール；ジアシルグリセロール；スフィンゴ脂質代謝；メバロン酸代謝；ステロール；ステロイド；一次胆汁酸代謝；二次胆汁酸代謝；ジアシルグリセロール；トリアシルグリセロール；リゾホスファチジルコリン；ホスファチジルコリン；ホスファチジルエタノールアミン；ホスファチジルセリン；スフィンゴミエリン；スフィンゴ脂質代謝；カルジオリピン；コレステロールエステル；リン脂質；プリン代謝、（ヒポ）キサンチン／イノシン含有；プリン代謝、アデニン含有；プリン代謝、グアニン含有；ピリミジン代謝、オロト酸含有；ピリミジン代謝、ウラシル含有；ピリミジン代謝、シチジン含有；ピリミジン代謝、チミン含有；プリン及びピリミジン代謝；ニコチン酸塩及びニコチンアミド代謝；リボフラビン代謝；パントテン酸及びＣｏＡ代謝；アスコルビン酸及びアルダル酸代謝；トコフェロール代謝；ビオチン代謝；葉酸代謝；テトラヒドロビオプテリン代謝；プテリン代謝；ヘモグロビン及びポルフィリン代謝；リポ酸代謝；チアミン代謝；ビタミンＫ代謝；ビタミンＡ代謝；ビタミンＢ１２代謝；ビタミンＢ６代謝；安息香酸代謝；キサンチン代謝；タバコ代謝産物；食物成分／植物；細菌；薬物；フタル酸；並びに化学物質を含む１種又は複数の生化学サブパスウェイにグループ分けされてもよい。

【００３４】

方法の代表的な実施形態において、試料は、例えば、ＬＣ－ＭＳ／ＭＳアッセイ方法を使用して、質量分析器具システム（本明細書においてプラットフォームとして言及される）において分析される（本明細書において「実行される」として言及される）。試料における生化学物質は、信頼のおける標準の生化学物質ライブラリーへの比較により同定される。同定は、例えば、保持時間、保持指標、精密質量、及び生化学的断片化パターンを含む特性に基づき成される。試験試料における同定された生化学物質のそれぞれについての選択されたイオン断片（ｑｕａｎｔイオン）のシグナル強度は、例えば、他の試験試料、又は１種若しくは複数の参照試料から得られるものと比較され得る。このアプローチは、試料、又は試料の群についてそれぞれの生化学物質についての相対的定量を達成する。試料は、試験試料又は参照試料であってもよい。相対的な生化学物質の定量を使用して、生化学物質のレベル及び／又は生化学経路における生化学物質のレベルに基づき、個々の試料又は試料の群を比較してもよい。相対的な生化学物質の定量は、試料間の同じ分子を比較するのに有用である。

【００３５】

臨床使用のため（例えば、実験室開発試験、ＬＤＴとして）意図されるアッセイにおいて測定される生化学物質を分析的に検証して、法的規制を満たさなければならない。

【００３６】

分析検証についての生化学物質の性能は、１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出限界（ＬＯＤ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、及び／又は標準臨床アッセイとの比較／相関を含むが、これらに限定されない、多数の分析検証条件を使用して評価することができる。１種又は複数の分析検証条件についての性能値が、条件についての採用基準セットに合致するか、又は超える（すなわち、性能値が、参照値範囲内である）なら、生化学物質は、分析的に検証されたと決定される。性能採用基準についての非限定的な代表的な許容可能な性能値は、％占有＞８０％；％ＣＶ＜３５％；R^2＞０．８を含んでもよい。さらに、条件を複数の器具システム（すなわち、プラットフォーム）において評価して、検証分析の一貫性及び頑強性を示すためのプラットフォーム間の精密度を評価してもよい。

【００３７】

代謝プロファイリングアッセイにおいて、何百もの生化学物質が測定される。これらの生化学物質の全てを完全に分析的に検証することは、リソースが必要とされ多くの時間がかかることに起因して、非実用的である。複数の検証条件を使用した、生化学物質のサブセットを完全に分析的に検証する方法が、本明細書において記載される。分析検証に必要

な分析検証条件及び採用基準は、アッセイがどのように使用されているかに依存し得る。当業者は、アッセイの最終使用に基づき必要とされる条件及び採用基準を理解し、認識し得る。法的規制を満たすのに必要な評価される分析検証条件についての分析検証基準に合致する生化学物質は、「完全に分析的に検証される」ことが決定され、「完全に分析的に検証された」として言及され、従って、これを使用して、合理化された分析検証アプローチを使用して構造上又は生化学的に関連する生化学物質を分析的に検証することができる。

【００３８】

１つの実施形態において、生化学物質についての日内精密度及び日間精密度の採用基準は、生化学物質が検出される試料の数に基づいてもよい（「％占有」）。１つの例において、生化学物質が、試料の少なくとも８０％において検出されるなら、生化学物質は、日内精密度又は日間精密度についての採用基準に合致するとみなされる。別の例において、生化学物質が、試料の１００％において検出されるなら、生化学物質は、日内精密度又は日間精密度についての採用に合致するとみなされる。

【００３９】

別の実施形態において、生化学物質についての日内精密度、日間精密度及びプラットフォーム間の精密度の採用基準は、変異係数（ＣＶ）に基づいてもよい。例えば、生化学物質のＣＶが、４０％未満であるなら、生化学物質は、日内精密度、日間精密度又はプラットフォーム間の精密度についての採用基準に合致するとみなされる。他の例において、生化学物質のＣＶが、３５％未満、３０％未満、２５％未満、又は２０％未満であるなら、生化学物質は、日内精密度、日間精密度又はプラットフォーム間の精密度についての採用基準に合致するとみなされる。

【実施例】

【００４０】

Ｉ．一般的な方法

サンプルの小分子プロファイルを生成するには、その構成成分の生化学的小分子の分析が必要となる。分析は、複数の小分子の少なくとも一部をサンプルから抽出することを含み得る。この分析は、当技術分野で公知の１つ以上の異なる分析手法を用いることを行ってよい。分析手法は、例えば液体クロマトグラフィー（ＬＣ）、高速液体クロマトグラフィー（ＨＰＬＣ）（Ｋｒｉｓｔａｌ，ｅｔ ａｌ．Ａｎａｌ．Ｂｉｏｃｈｅｍ．２６３：１８－２５（１９９８）を参照）、ガスクロマトグラフィー（ＧＣ）、薄層クロマトグラフィー（ＴＬＣ）、電気化学的分離技術（国際公開第９９／２７３６１号パンフレット、国際公開第９２／１３２７３号パンフレット、米国特許第５，２９０，４２０号明細書、米国特許第５，２８４，５６７号明細書、米国特許第５，１０４，６３９号明細書、米国特許第４，８６３，８７３号明細書、及び米国特許第ＲＥ３２，９２０号明細書を参照）、屈折率分光法（ＲＩ）、紫外分光法（ＵＶ）、蛍光分析、放射化学的分析、近赤外分光法（Ｎｅａｒ－ＩＲ）、核磁気共鳴分光法（ＮＭＲ）、光散乱分析（ＬＳ）、質量分析（ＭＳ）、タンデム質量分析（ＭＳ／ＭＳ２）、及び方法の組合せ、例えばガスクロマトグラフィー／質量分析（ＧＣ－ＭＳ）、液体クロマトグラフィー／質量分析（ＬＣ－ＭＳ）、超高速液体クロマトグラフィー／タンデム質量分析（ＵＨＬＣ／ＭＳ／ＭＳ２）、又はガスクロマトグラフィー／タンデム質量分析（ＧＣ／ＭＳ／ＭＳ^2）が挙げられる。

【００４１】

網羅的生化学物質プロファイリング方法は、例えば、液体クロマトグラフィー（ＬＣ）、ガスクロマトグラフィー（ＧＣ）、質量分析（ＭＳ）、又はその組み合わせを含む、１種又は複数のアッセイからなり得る。アッセイは、例えば、ＬＣ陽イオン極性ＵＨＰＬＣ－ＲＰ（逆相）／ＭＳ／ＭＳｎ；ＬＣ陽イオン脂質ＵＨＰＬＣ－ＲＰ／ＭＳ／ＭＳｎ；ＬＣ陰イオンＵＨＰＬＣ－ＲＰ／ＭＳ／ＭＳｎ；ＬＣ陰イオンＵＨＰＬＣ－ＨＩＬＩＣ（親水性相互作用液体クロマトグラフィー）／ＭＳ／ＭＳｎ、ＧＣ－ＭＳ、又はその組み合わせを含み得る。

【００４２】

生化学物質を、生化学経路（スーパーパスウェイ及びサブパスウェイ）にグループ分け

し得る。同じ経路における生化学物質は、典型的には、類似の化学構造を有し、構造上関連するとみなす。類似の化学構造を有する生化学物質は、通常、アッセイにおいて類似の性能を有する。性能を、次の条件：１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、検出限界（ＬＯＤ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、及び標準臨床アッセイとの相関のそれぞれを使用して、選択した生化学物質（表１及び２）について評価した。合理化された条件のセットを使用して、さらなる生化学物質の性能を評価し、４，０００種を超える生化学物質の性能を、完全な評価のコストの分画における時間の分画において評価することを可能にした。

【００４３】

Ａ．網羅的生化学物質プロファイリング

本明細書において記載する代表的な実施形態において、網羅的生化学物質プロファイリング方法は、４種の別々の液体クロマトグラフィー（ＬＣ）質量分析（ＭＳ）方法：ＬＣ陽イオン極性ＵＨＰＬＣ－ＲＰ（逆相）／ＭＳ／ＭＳｎ、ＬＣ陽イオン脂質ＵＨＰＬＣ－ＲＰ／ＭＳ／ＭＳｎ、ＬＣ陰イオンＵＨＰＬＣ－ＲＰ／ＭＳ／ＭＳｎ及びＬＣ陰イオンＵＨＰＬＣ－ＨＩＬＩＣ（親水性相互作用液体クロマトグラフィー）／ＭＳ／ＭＳ^{n}を含んでいた。

【００４４】

Ｂ．ＵＰＬＣ方法

試料を抽出し、内部標準を含有する溶媒で復元した。ＬＣ－ＭＳにより分析した全ての復元したアリコートを、Ｗａｔｅｒｓ Ａｃｑｕｉｔｙ ＵＰＬＣ（Ｗａｔｅｒｓ Ｃｏｒｐ．、Ｍｉｌｆｏｒｄ、ＭＡ）を使用して分離した。アリコートを、水中の０．１％ギ酸（Ａ）及びメタノール中の０．１％ギ酸（Ｂ）からなる０．１％ギ酸を使用した移動層溶媒で復元した。アリコートを、水中の６．５ｍＭ炭酸水素アンモニウム、ｐＨ８（Ａ）及びメタノール及び水中の６．５ｍＭ炭酸水素アンモニウムからなる６．５ｍＭ炭酸水素アンモニウムを使用した移動層溶媒で復元した。ギ酸復元抽出物と炭酸水素アンモニウム復元抽出物の両方について利用した勾配プロファイルを、０．５％Ｂ及び流速３５０μＬ／分の内部条件で行った。全体の実行時間は、６分未満であった。流速は上記であった。試料注入体積は、５μＬであり、２×ニードルループオーバフィルを使用した。液体クロマトグラフィー分離を、４０℃において、別々の酸又は塩基専用の２．１ｍｍ×１００ｍｍのＷａｔｅｒｓ ＢＥＨ Ｃ１８ １．７μｍ粒子サイズカラムにて行った。

【００４５】

Ｃ．ＵＰＬＣ－ＭＳ方法

ＯｒｂｉｔｒａｐＥｌｉｔｅ（ＯｒｂｉＥｌｉｔｅ Ｔｈｅｒｍｏ Ｓｃｉｅｎｔｉｆｉｃ、Ｗａｌｔｈａｍ、ＭＡ）質量分析計を使用した。ＯｒｂｉＥｌｉｔｅ質量分析計は、ポジティブモードについてシースガス設定８０、補助ガス１２、及び電圧設定４．２ｋＶでのＨＥＳＩ－ＩＩソースを利用した。ネガティブモードについての設定は、シースガス７５、補助ガス１５を有し、電圧を２．７５ｋＶに設定した。両方のモードについてのソースヒーター温度は４３０℃であり、キャピラリー温度は３５０℃であった。質量範囲は９９～１０００ｍ／ｚであり、スキャン速度１秒当たり４．６回のトータルスキャンを伴い、また１回のフルスキャンと１回のＭＳ／ＭＳスキャンとを交互に行う。解像度は３０，０００に設定した。フーリエ変換質量分析（ＦＴＭＳ）フルスキャン自動利得制御（ＡＧＣ）標的を、カットオフ時間５００ｍｓを用いて５×１０５に設定した。イオントラップＭＳ／ＭＳのＡＧＣ標的は、最長充填時間１００ｍｓを用いて３×１０^{3}であった。ポジティブモードについての標準化衝突エネルギーを、３２任意単位に設定し、ネガティブモードを３０に設定した。活性化Ｑは０．３５であり、活性化時間は、再度３ｍ／ｚの単離質量ウィンドウを用いて３０ｍｓであった。３．５秒の持続時間を用いた動的除外設定が可能であった。較正を、Ｐｉｅｒｃｅ（商標）ＬＴＱ Ｖｅｌｏｓエレクトロスプレーイオン化（ＥＳＩ）陽イオン較正溶液又はＰｉｅｒｃｅ（商標）ＥＳＩ陰イオン較正溶液の注入を使用して毎週行った。

【００４６】

Ｄ．データの処理と分析
　各器具の各生物学的マトリックスデータセットについて、抽出効率、器具の性能、カラムの完全性、クロマトグラフィー及び質量の較正を確認するために、各内部標準についてピーク面積の相対標準偏差（ＲＳＤ）を計算した。これらの内部標準のいくつかは、保持指数（ＲＩ）マーカーとして機能し、保持時間及びアライメントについて確認した。内部標準は、ＱＣ目的のために使用されるがアッセイでの生化学物の定量のためには使用されない。ＵＰＬＣ－ＭＳシステムに付随する修正版のソフトウェアを、ピークの検出及び統合に使用した。この処理からの出力は、ｍ／ｚ比、保持時間及び曲線値の下の面積のリストを生成した。信号対雑音比、高さ及び幅の閾値を含むピーク検出の基準を、ソフトウェアが指定した。

【００４７】
　ＱＣサンプルを含む生物学的データセットは、固定のＲＩ値が割り当てられた内部標準を利用する保持指数に基づいてクロマトグラフィーに関して整列した。実験のピークのＲＩは、その値が変化しない、隣接するＲＩマーカー間の線形的適合を仮定することによって判定した。ＲＩの利点は、サンプルのｐＨやカラムの経年などの系統的な誤差によって引き起こされた保持時間ドリフトを補正することである。それぞれの生化学物のＲＩを、その２つの側方保持マーカーとの溶出関係に基づいて指定した。統合された整列されたピークを、真の物質の化学ライブラリーと整合させ、使用されたデータ収集方法に特有の未知の生化学物をルーティンに検出した。整合は、保持指数値に及びライブラリーの真の標準への実験前駆体質量整合に基づいていた。実験ＭＳ／ＭＳは、真の標準についてのライブラリースペクトルと比較し、前向き及び後ろ向きのスコアが割り当てられた。完全な前向きスコアは、実験スペクトル中のすべてのイオンが正しい比率で真の標準におけるライブラリーで見出されることを示し、完全な後ろ向きスコアは、すべての真の標準ライブラリーイオンが実験スペクトル及び正しい比率で存在することを示した。前向き及び後ろ向きスコアを比較し、提案された整合についてＭＳ／ＭＳフラグメンテーションスペクトルスコアを付与した。

【００４８】
　化学ライブラリー、命名された化合物及び日常的に検出された未知の化合物の同定のための統合された整列されたピークを整合させる方法、及びサンプル中の小分子を同定するためのコンピュータ可読コードに関するさらなる詳細は、本明細書にその全体が参考として援用される米国特許第７，５６１，９７５号において見出すことができる。

【００４９】
（例１）
代表的な代謝産物の完全な分析的検証
　代表的なセットの代謝産物の分析性能を、現在許容されるか、又は必要とされる従来の分析検証技術を使用して、評価し、完全に検証した。１０（１０）種の分析検証条件：１日精密度（日内精密度）、多日精密度（日間精密度）、及び検出／定量限界（ＬＯＤ／ＬＯＱ）、直線性、安定性、キャリーオーバー、マトリックス効果、生化学物質回収、干渉、及び標準臨床アッセイとの相関を評価した。性能値を、評価するそれぞれの生化学物質についての分析検証条件のそれぞれについて計算した。分析検証及び性能評価を、本明細書においてプラットフォーム（すなわち、プラットフォームＱ、Ｒ、Ｓ及びＴ）として言及されるそれぞれのシステムを含む、４種の独立したＬＣ－ＭＳ／ＭＳ器具システムを使用して、血漿、血清、尿、及びＣＳＦ試料において実行した。血漿及び血清試料における２７６種の代謝産物並びに尿及びＣＳＦ試料における１７６種の代謝産物の分析性能を、以下で説明する、現在許容される実行及び基準に従い、評価し、完全に分析的に検証した。

【００５０】
　１日精密度：２種の独立した試験試料、試験試料１及び試験試料２を使用して、日内精密度を評価した。それぞれの試験試料を、健常な成人ボランティア由来の６（６）種の異なるＥＤＴＡ血漿試料をプールすることにより生成した（すなわち、６人の健常な成人の血漿試料をプールして、試験試料１を生成し、試験試料１を生成するために使用した試料

と異なる６人の健常な成人の血漿試料をプールして、試験試料２を生成した）。ある種の代謝産物は、疾患患者試料においてのみ見られ、健常個体由来の試料においては見られず、これらの生化学物質を、稀な代謝産物と称する。これらの稀な代謝産物は、試験試料１及び試験試料２において存在しないので、これらの代謝産物を、プールした試験試料に加えた。試験試料を、５種の技術複製物を用いて、それぞれの試験試料について、５日間に渡り、４種のＬＣ－ＭＳ／ＭＳプラットフォーム（Ｑ、Ｒ、Ｓ、及びＴ）のそれぞれにおいて分析して、％ＣＶに基づき日内精密度を決定した。未処理のカウントの％ＣＶを、全４種のプラットフォームに渡るそれぞれの技術複製試料における表１及び２に挙げる代謝産物のそれぞれについて決定した。最適な日内精密度は％ＣＶ≦２５であり、％ＣＶ≦２５を有する代謝産物は、％ＣＶ採用基準に合致する；しかしながら、２５～３０％ＣＶを有する代謝産物は、％ＣＶについての採用基準に合致し、ただし、３種以下の試料は、これらの範囲内のＣＶを有する；３０～４０％ＣＶを有する代謝産物は、％ＣＶについての採用基準に合致し、ただし、１種以下の試料は、この範囲内の％ＣＶを有する；＞４０％ＣＶ日内精密度分析を有する代謝産物は、正確ではなく、採用基準に合致しない。

【００５１】

日間精密度：２種の固有の試験試料を、５種の技術複製物を用いて、それぞれの試験試料について５日間に渡り分析して、日内精密度を決定した。プールした参照試料を、数日間（１～５日目）に渡る標準化のための使用に含めた。９種のプールの参照試料を、それぞれの試料バッチを用いて、複製試験試料と一緒に分析した。日間精密度についての性能値を、％ＣＶを使用して計算した。表１及び２における生化学物質のそれぞれについての％ＣＶを、９種のプールした参照試料の平均の未処理のカウントに対して標準化した（すなわち、割った）、それぞれの試料についての平均の未処理のカウントを使用して決定した。最適な日間精密度は、≦２５％ＣＶであり、％ＣＶ≦２５を有する代謝産物は、％ＣＶ採用基準に合致する；しかしながら、１種の複製物について２５～３５％ＣＶを有する代謝産物は、％ＣＶについての採用基準に合致し、但し、他の複製物の全ては、＜２５％ＣＶである。

【００５２】

直線性：直線性を評価するために、表１及び２に挙げる生化学物質を、溶媒に６桁分の量で加え、次に抽出した。試料を、４種のＬＣ－ＭＳ／ＭＳ分析プラットフォームのそれぞれにおいてトリプリケートで実行した。それぞれの生化学物質を、次の濃度：０．０４０４ｎｇ／ｍＬ、０．４８２ｎｇ／ｍＬ、５．７９ｎｇ／ｍＬ、６９．４ｎｇ／ｍＬ、８３３ｎｇ／ｍＬ、及び１０，０００ｎｇ／ｍＬを有する６段階の連続希釈連続物において分析した。それぞれの希釈のトリプリケート試料分析におけるそれぞれの生化学物質についての平均シグナル強度を、公知の濃度の生化学物質に対してグラフにした。検出限界の又はそれより上のデータポイントのみを、直線性計算において含めた。希釈連続物は、６段階の１２倍の希釈液を含んでいた。実験を、４種の分析プラットフォームのそれぞれにおいて行った。直線範囲の最低及び最高濃度を含む、完全な標準曲線を、それぞれのプラットフォームについての表１及び２におけるそれぞれの生化学物質について計算し、直線性プロットを生成した。直線性についての性能値を、Ｒ２及び系統誤差（％ＳＥ）を使用して計算した。次に、計算した性能値を、直線性採用基準と比較して、生化学物質が、直線性についての採用基準に合致するか、又は上回るかを決定した。直線性についての分析検証の採用基準は、次の通りである：生化学物質についてのR^2値は、＞０．９５でなければならず、％系統誤差（ＳＥ）は、最低濃度ポイントにおいて２０％内であるか、又は他の濃度において１５％内であり、データポイントについて、直線性曲線における使用のための採用基準に合致するべきである。

【００５３】

検出限界：代謝産物についての検出限界（ＬＯＤ）を、１）希釈レベル及び全ての続くレベルについての全ての複製物を観察する（すなわち、１００％占有）及び２）希釈レベル及び全ての続く希釈レベルについての平均の未処理のイオン強度が、いずれかの前のレベルの平均強度より少なくとも２倍高い、として規定する。表１及び２における生化学物

質のそれぞれを、代替マトリックスに加え、次に抽出した。代謝産物を、６桁分に渡る連続希釈に加えた。試料を、４種の器具プラットフォームのそれぞれにおいてトリプリケートで調製した。それぞれの代謝産物（以下で記載する、カプロン酸及びフェニルプロピオニルグリシンを除く）を、次の濃度：０．０４０４ｎｇ／ｍＬ、０．４８２ｎｇ／ｍＬ、５．７９ｎｇ／ｍＬ、６９．４ｎｇ／ｍＬ、８３３ｎｇ／ｍＬ、及び１０，０００ｎｇ／ｍＬを含む６段階の連続希釈連続物において分析した。カプロン酸を、次の濃度：２．０１ｎｇ／ｍＬ、２４．１ｎｇ／ｍＬ、２８９ｎｇ／ｍＬ、３，４７０ｎｇ／ｍＬ、４１，７００ｎｇ／ｍＬ、５００，０００ｎｇ／ｍＬを含む６段階の連続希釈連続物において分析した。フェニルプロピオニルグリシンを、次の濃度：２．０１ｎｇ／ｍＬ、２４．１ｎｇ／ｍＬ、２８９ｎｇ／ｍＬ、３，４７０ｎｇ／ｍＬ、４１，７００ｎｇ／ｍＬ、５００，０００ｎｇ／ｍＬを含む６段階の連続希釈連続物において分析した。ＬＯＤは、全４種の器具プラットフォームにおいて観察した最小値であると決定した。ＬＯＤ／ＬＯＱについての採用基準に合致するために、代謝産物の測定したレベルは、ＬＯＤ／ＬＯＱより上でなければならない。

【００５４】

マトリックス効果／回収：マトリックス効果／回収を評価するために、表１及び２に挙げる生化学物質のそれぞれを、代替マトリックスに加え、次に抽出した。生化学物質を、１）低及び２）高濃度にて、次の溶液：（Ａ）適切な溶液；（Ｂ）抽出後に加えたＭＴＲＸ　ＱＣ；（Ｃ）抽出前に加えたＭＴＲＸ　ＱＣ；（Ｄ）加えていないＭＴＲＸ　ＱＣに加えた。試料を、プラットフォームＲにおいて分析し、未処理のイオン強度を使用して、マトリックス効果（ＭＥ）、％回収（ＲＥＣ）及び全体プロセス効率（ＯＰＥ）を次の通り計算した：

【数１】

$$\%ME = \frac{(B-D)}{A} \times 100$$

$$\%REC = \frac{C}{B} \times 100$$

全体プロセス効率：

【数２】

$$\%PE = \frac{ME \times RE}{100}$$

【００５５】

マトリックス効果／回収についての採用基準は、％ＭＥ、％ＲＥＣ、又は％ＯＰＥの性能値に基づいた。マトリックス効果／回収についての採用基準は、以下の通りであった：最適な性能を、１００％に近い％ＭＥ、％ＲＥＣ及び％ＯＰＥを有する生化学物質について示し、これらの値に到達する生化学物質は、最低の採用基準に合致し、上回る。回収についての採用基準に合致するために、計算した平均の濃度は、ＱＣ対照における濃度の±１５％内であるべきである。マトリックス効果についての採用基準に合致するために、定量は、±１５％より多く影響されるべきではない。

【００５６】

外因性の干渉：網羅的メタボロミクスプロファイリングを使用して取得した背景データは、外因性干渉を、他の生化学物質特性と独立して測定し得ることを示す。すなわち、背景研究のデータは、接着剤及びおむつ材料のような外因性干渉由来の分子が、このプラットフォーム上での生化学物質のクロマトグラフィー分離及び同定と干渉しないことを明らかにする。加えて、薬／分子（例えば、スタチン、非ステロイド系抗炎症薬、鎮痛剤、抗生物質、抗ヒスタミン剤、及び糖尿病用薬）のため行った生化学物質の同定が、このプラ

ットフォーム上での他の小分子のクロマトグラフィー分離及び生化学物質同定と干渉しないことを示した。外因性干渉物質又は薬からの外因性干渉についての採用基準に合致するために、干渉物質の存在下で測定したレベルの間の％相違は、干渉物質の不存在下で測定したレベルの±１５％内であるべきである。

【００５７】

キャリーオーバー：キャリーオーバーを、表１に挙げる生化学物質のそれぞれについて４種のプラットフォームのそれぞれにおいて評価し、生化学物質標準の直線性及び検出分析の限界の一部として、分析した。具体的には、それぞれの分析実行で、直線性連続希釈液における最高の標準曲線試料の後に、２つのプロセスブランクを含めた。第１のブランクは、インジェクターキャリーオーバー試料として機能し、第２のブランクは、カラムキャリーオーバーブランクとして機能する。ＬＯＤ／直線性希釈連続物における最高濃度の加えた生化学物質（すなわち、１０，０００ｎｇ／ｍＬ）を含む試料、インジェクターブランク、及びキャリーオーバーブランクについて、未処理のイオン強度を決定した。キャリーオーバーについての性能値を、％トータルキャリーオーバーを使用して計算した。２種のブランクのイオン強度を足し、希釈連続物における最高濃度に対するパーセントキャリーオーバーを計算することにより、％トータルキャリーオーバーを規定する。この例において、次の方程式を使用して、％キャリーオーバーを計算した：（プロセスブランクにおける分析体面積）／（希釈連続物中の最終複製試料における分析面積）×１００。生化学物質を、キャリーオーバー試料において検出しないなら、それは、キャリーオーバーが存在しなかったことを示す、０として報告する。

【００５８】

器具の二重カラム配置のため、第１のキャリーオーバーブランク（すなわち、ＩＮＪ＿ＣＯ）は、インジェクターキャリーオーバーを報告し、第２のキャリーオーバーブランク（すなわち、ＣＯＬＵＭＮ＿ＣＯ）は、カラムキャリーオーバーを報告する。トータルキャリーオーバーは、２つの合計である。

【００５９】

次に、キャリーオーバーについて得た計算した性能値を採用基準と比較して、キャリーオーバーについての生化学物質の採用を決定した。キャリーオーバーについての採用基準（化合物キャリーオーバー限界として記載する）は以下の通りであった：化合物キャリーオーバー限界（すなわち、Ｃｍｐｄキャリーオーバー限界）を、２００倍の動作範囲を有する化合物のＬＯＤ濃度が、＞２０％影響され得ない（すなわち、＞２０％の％トータルキャリーオーバーを有し得ない）ことを規定する臨床上許容可能なガイドラインに従い、設定した。このガイドラインに基づき、及びそれぞれの化合物の動作範囲（複数の患者バッチ試験により決定する）に基づき、Ｃｍｐｄキャリーオーバー限界を確立した。

【００６０】

標準臨床アッセイに対する比較（正確さ）：利用可能なとき、生化学物質についての測定値を、臨床／診断研究室において分析体を測定するために使用する標準ＣＡＰ／ＣＬＩＡ保証キットと比較した。標準キットは、分析体についての定量的測定値を生じる。これらの値を、網羅的メタボロミクスプロファイリングを使用して得た半定量的値と関連付けた。標準臨床アッセイへの比較のための性能値を、相関分析を使用して計算した。相関分析を、網羅的メタボロミクスプロファイリングと標準キットアッセイの測定値の間で行った。それぞれの生化学物質についての相関を計算し、報告した。次に、計算した性能値を採用基準と比較して、標準臨床アッセイに対する比較（正確さ）についての生化学物質の採用を決定した。標準臨床アッセイに対する比較（正確さ）についての採用基準は、０．８以上の相関であり、この性能値と合致するか、又は超える生化学物質を、許容可能であるとみなした。

【００６１】

血漿及び血清試料における２７６種の化合物の性能を、上で記載した、従来の現在許容される実行に従い評価し、検証した。血漿及び血清において評価し、完全に分析的に検証された２７６種の化合物のリストを、表１に提示する。表１はまた、生化学経路又はそれ

ぞれの化合物と関連するサブファミリーを含む。

【表１－１】

表 1:血漿及び血清において完全に分析的に検証した生化学物質並びに関連する生化学経路

生化学物質名	生化学物質サブファミリー
1,5-アンヒドログルシトール(1,5-AG)	解糖、糖新生、及びピルビン酸代謝
12-HETE	エイコサノイド
13-HODE+9-HODE	脂肪酸、モノヒドロキシ
16a-ヒドロキシDHEA3-スルファート	ステロイド
17アルファ-ヒドロキシプレグネノロン-3-スルファート	ステロイド
1-リノレオイル-GPC(18:2)	リゾ脂質
2-アミノアジパート	リシン代謝
2-アミノヘプタノアート	脂肪酸、アミノ
2'-デオキシアデノシン	プリン代謝、アデニン含有
2'-デオキシグアノシン	プリン代謝、グアニン含有
2'-デオキシイノシン	プリン代謝、(ヒポ)キサンチン/イノシン含有
2'-デオキシウリジン	ピリミジン代謝、ウラシル含有
2-ヒドロキシ-3-メチルバレラート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
2-ヒドロキシブチラート/2-ヒドロキシイソブチラート	グルタチオン代謝
2-ヒドロキシグルタラート	脂肪酸、ジカルボキシラート
2-ヒドロキシフェニルアセタート	フェニルアラニン及びチロシン代謝
2-メチルブチロイルカルニチン(C5)	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
2-メチルシトラート	TCA回路
2-メチルヒプラート	安息香酸代謝
2-メチルマロニルカルニチン	脂肪酸合成
2-ピロリジノン	化学物質
3-(4-ヒドロキシフェニル)ラクタート(HPLA)	フェニルアラニン及びチロシン代謝
3-(3-ヒドロキシフェニル)プロピオナート	安息香酸代謝
3,4-ジヒドロキシフェニルアセタート	フェニルアラニン及びチロシン代謝
3-カルボキシ-4-メチル-5-プロピル-2-フランプロパノアート(CMPF)	脂肪酸、ジカルボキシラート
3-ヒドロキシ-2-エチルプロピオナート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
3-ヒドロキシ-2-メチルブチラート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
3-ヒドロキシブチラート(BHBA)	ケトン体
3-ヒドロキシヒプラート	安息香酸代謝
3-ヒドロキシイソブチラート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
3-ヒドロキシプロパノアート	脂肪酸、モノヒドロキシ

【表１－２】

3-インドキシル-スルファート	トリプトファン代謝
3-メチル-2-オキソブチラート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
3-メチル-2-オキソバレラート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
3-メチルアジパート	脂肪酸、ジカルボキシラート
3-メチルクロトニルグリシン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
3-メチルグルタコナート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
3-メチルヒスチジン	ヒスチジン代謝
3-フェニルプロピオナート(ヒドロシンナマート)	フェニルアラニン及びチロシン代謝
3-ウレイドプロピオナート	ピリミジン代謝、ウラシル含有
4-アセタミドブタノアート	ポリアミン代謝
4-グアニジノブタノアート	グアニジノ及びアセタミド代謝
4-ヒドロキシヒプラート	安息香酸代謝
4-ヒドロキシフェニルアセタート	フェニルアラニン及びチロシン代謝
4-ヒドロキシフェニルピルバート	フェニルアラニン及びチロシン代謝
4-メチル-2-オキソペンタノアート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
4-オクテネジオアート	脂肪酸、ジカルボキシラート
4-フェニルブチラート	薬物
4-ウレイドブチラート	ピリミジン代謝、ウラシル含有
5,6-ジヒドロウラシル	ピリミジン代謝、ウラシル含有
5-HETE	エイコサノイド
5-ヒドロキシヘキサノアート	脂肪酸、モノヒドロキシ
5-メチルチオアデノシン(MTA)	ポリアミン代謝
5-オキソプロリン	グルタチオン代謝
7-メチルグアノシン	プリン代謝、グアニン含有
9,10-DiHOME	脂肪酸、ジヒドロキシ
アセチルカルニチン(C2)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
アデニン	プリン代謝、アデニン含有
アデノシン	プリン代謝、アデニン含有
アデノシン5'-モノホスファート(AMP)	プリン代謝、アデニン含有
アデノシン-5-ジホスホリボース(ADP-リボース)	プリン代謝、アデニン含有
アジピン酸	脂肪酸、ジカルボキシラート
アラニン	アラニン及びアスパラギン酸代謝
アラントイン	プリン代謝、(ヒポ)キサンチン/イノシン含有
アロ-イソロイシン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
アルファ-ヒドロキシイソカプロアート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
アルファ-ヒドロキシイソバレラート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
アルファ-ケトグルタラート	TCA回路
アルファ-トコフェロール	トコフェロール代謝

【表１－３】

アンドロステロンスルファート	ステロイド
アンセリン	ジペプチド誘導体
アラビトール/キシリトール	ペントース代謝
アラボナート/キシロナート	ペントース代謝
アラキドナート(20:4n6)	ポリ不飽和脂肪酸(n3及びn6)
アルギニン	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
アルギニノスクシナート	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
アスコルバート(ビタミンC)	アスコルビン酸及びアルダル酸代謝
アスパラギン	アラニン及びアスパラギン酸代謝
アスパルタート	アラニン及びアスパラギン酸代謝
アゼラート(ノナネジオアート;C9)	脂肪酸、ジカルボキシラート
安息香酸	安息香酸代謝
ベータ-ヒドロキシイソバレラート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
ベータ-ヒドロキシイソバレロイルカルニチン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
ビリルビン	ヘモグロビン及びポルフィリン代謝
ビリベルジン	ヘモグロビン及びポルフィリン代謝
ビオチン	ビオチン代謝
ブチリルカルニチン(C4)	脂肪酸代謝(又はBCAA代謝)
カプラート(10:0)	中鎖脂肪酸
カプロアート(6:0)	中鎖脂肪酸
カプリラート(8:0)	中鎖脂肪酸
カルニチン	カルニチン代謝
カルノシン	ジペプチド誘導体
C-グリコシルトリプトファン	トリプトファン代謝
ケノデオキシコラート	一次胆汁酸代謝
コラート	一次胆汁酸代謝
コレステロール	ステロール
コリン	リン脂質代謝
シス-4-デセノイルカルニチン(C10:1)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
シトラート	TCA回路
シトルリン	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
コルチコステロン	ステロイド
コルチゾール	ステロイド
コルチゾン	ステロイド
クレアチン	クレアチン代謝
クレアチニン	クレアチン代謝
システイニルグリシン、酸化	グルタチオン代謝
システイン	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
システイン-グルタチオンジスルフィド	グルタチオン代謝

【表１－４】

システイン-s-スルファート	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
システイン	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
シチジン	ピリミジン代謝、シチジン含有
デカノイルカルニチン(C10)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
デヒドロイソアンドロステロンスルファート(DHEA-S)	ステロイド
デオキシカルニチン	カルニチン代謝
デオキシコラート	二次胆汁酸代謝
ドコサヘキサエノアート(DHA;22:6n3)	ポリ不飽和脂肪酸(n3及びn6)
ドコサペンタエノアート(n6 DPA;22:5n6)	ポリ不飽和脂肪酸(n3及びn6)
ドデカンジオアート(C12)	脂肪酸、ジカルボキシラート
ドーパミン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
エイコサペンタエノアート(EPA;20:5n3)	ポリ不飽和脂肪酸(n3及びn6)
エピアンドロステロンスルファート	ステロイド
エリトリトール	食物成分/植物
エチルマロナート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
エチオコラノロングルクロニド	ステロイド
フルクトース	フルクトース、マンノース及びガラクトース代謝
フマラート	TCA回路
ガンマ-アミノブチラート(GABA)	グルタミン酸代謝
ガンマ-グルタミルロイシン	ガンマ-グルタミルアミノ酸
ガンマ-グルタミルメチオニン	ガンマ-グルタミルアミノ酸
ガンマ-グルタミルフェニルアラニン	ガンマ-グルタミルアミノ酸
ガンマ-グルタミルバリン	ガンマ-グルタミルアミノ酸
グルコース	解糖、糖新生、及びピルビン酸代謝
グルタマート	グルタミン酸代謝
グルタミン	グルタミン酸代謝
グルタラート(ペンタネジオアート)	リシン代謝
グルタロイルカルニチン(C5)	リシン代謝
グリセラート	解糖、糖新生、及びピルビン酸代謝
グリセロール	グリセロ脂質代謝
グリセロホスホリルコリン(GPC)	リン脂質代謝
グリシン	グリシン、セリン及びスレオニン代謝
グリコケノデオキシコラート	一次胆汁酸代謝
グリココラート	一次胆汁酸代謝
グリコデオキシコラート	二次胆汁酸代謝

【表１－５】

グリコヒオコラート	二次胆汁酸代謝
グリコリトコラート	二次胆汁酸代謝
グリコウルソデオキシコラート	二次胆汁酸代謝
グアニジノアセタート	クレアチン代謝
グアニジノスクシナート	グアニジノ及びアセタミド代謝
グアノシン	プリン代謝、グアニン含有
ヘム	ヘモグロビン及びポルフィリン代謝
ヘプタノアート(7:0)	中鎖脂肪酸
ヘプタノイルグリシン	脂肪酸代謝(アシルグリシン)
ヘキサデカンジオアート(C16)	脂肪酸、ジカルボキシラート
ヘキサノイルカルニチン(C6)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
ヘキサノイルグリシン(C6)	脂肪酸代謝(アシルグリシン)
ヒプラート	安息香酸代謝
ヒスチジン	ヒスチジン代謝
ホモアルギニン	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
ホモシトルリン	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
ヒポキサンチン	プリン代謝、(ヒポ)キサンチン/イノシン含有
インドールアセタート	トリプトファン代謝
インドールアセチルグルタミン	トリプトファン代謝
インドールラクタート	トリプトファン代謝
インドールプロピオナート	トリプトファン代謝
イノシン	プリン代謝、(ヒポ)キサンチン/イノシン含有
イソブチリルカルニチン(C4)	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
イソブチリルグリシン(C4)	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
イソロイシン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
イソバレラート(C5)	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
イソバレリルカルニチン(C5)	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
イソバレリルグリシン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
キヌレナート	トリプトファン代謝
キヌレニン	トリプトファン代謝
ラクタート	解糖、糖新生、及びピルビン酸代謝
ラウリルカルニチン(C12)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
ロイシン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
リノレアート(18:2n6)	ポリ不飽和脂肪酸(n3及びn6)
リノレナート(18:3n3又は3n6)	ポリ不飽和脂肪酸(n3及びn6)
リシン	リシン代謝
マラート	TCA回路
マンノース	フルクトース、マンノース及びガラクトース代謝

【表１－６】

メチオニン	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
メチオニンスルホン	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
メチオニンスルホキシド	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
メチル-4-ヒドロキシ安息香酸	安息香酸代謝
メチルマロナート(MMA)	脂肪酸代謝(又はBCAA代謝)
メチルスクシナート	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
ミオ-イノシトール	イノシトール代謝
ミリスオレアート(14:1n5)	長鎖脂肪酸
ミリストイルカルニチン(C14)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
N1-メチルアデノシン	プリン代謝、アデニン含有
N2,N2-ジメチルグアノシン	プリン代謝、グアニン含有
N2-アセチルリシン	リシン代謝
N2-メチルグアノシン	プリン代謝、グアニン含有
N6-アセチルリシン	リシン代謝
N6,N6,N6-トリメチルリシン	リシン代謝
N6-スクシニルアデノシン	プリン代謝、アデニン含有
N-アセチルアラニン	アラニン及びアスパラギン酸代謝
N-アセチルアルギニン	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
N-アセチルグリシン	グリシン、セリン及びスレオニン代謝
N-アセチルロイシン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
N-アセチルネウラミナート	アミノ糖代謝
N-アセチルフェニルアラニン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
N-アセチルセリン	グリシン、セリン及びスレオニン代謝
N-アセチルスレオニン	グリシン、セリン及びスレオニン代謝
N-アセチルチロシン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
N-カルバモイルアスパルタート	ピリミジン代謝、オロト酸含有
N-ホルミルメチオニン	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
ニコチンアミド	ニコチン酸塩及びニコチンアミド代謝
N-オクタノイルグリシン	脂肪酸代謝(アシルグリシン)
オクタデカンジオアート(C18)	脂肪酸、ジカルボキシラート
オクタノイルカルニチン(C8)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
オレアート/バクセナート(18:1)	長鎖脂肪酸
オレオイルカルニチン(18:1)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
オルニチン	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
オロタート	ピリミジン代謝、オロト酸含有
パルミトレアート(16:1n7)	長鎖脂肪酸
パルミトイルカルニチン	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)

【表１－７】

パルミトイルスフィンゴミエリン(d18:1/16:0)	スフィンゴ脂質代謝
ペラルゴナート(9:0)	中鎖脂肪酸
フェニルアセタート	フェニルアラニン及びチロシン代謝
フェニルアセチルグルタミン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
フェニルアセチルグリシン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
フェニルアラニン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
フェニルアラニルフェニルアラニン	ジペプチド
フェニルラクタート(PLA)	フェニルアラニン及びチロシン代謝
フェニルプロピオニルグリシン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
フェニルピルバート	フェニルアラニン及びチロシン代謝
プレグナンジオール-3-グルクロニド	ステロイド
プレグネノロンスルファート	ステロイド
プロ-ヒドロキシ-プロ	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
プロリン	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
プロピオニルカルニチン(C3)	脂肪酸代謝(又はBCAA代謝)
プロピオニルグリシン(C3)	脂肪酸代謝(又はBCAA代謝)
プソイドウリジン	ピリミジン代謝、ウラシル含有
ピリドキサート	ビタミンB6代謝
キノリナート	ニコチン酸塩及びニコチンアミド代謝
レチノール(ビタミンA)	ビタミンA代謝
リボース	ペントース代謝
S-アデノシルホモシステイン(SAH)	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
セバカート(デカンジオアート)	脂肪酸、ジカルボキシラート
セリン	グリシン、セリン及びスレオニン代謝
セロトニン	トリプトファン代謝
ステアロイルカルニチン(C18)	脂肪酸代謝(アシルカルニチン)
スベラート(オクタンジオアート)	脂肪酸、ジカルボキシラート
スクシナート	TCA回路
スクシンイミド	化学物質
スクシニルカルニチン(C4)	TCA回路
タウリン	メチオニン、システイン、SAM及びタウリン代謝
タウロケノデオキシコラート	一次胆汁酸代謝
タウロコラート	一次胆汁酸代謝
タウロデオキシコラート	二次胆汁酸代謝
タウロリトコラート3-スルファート	二次胆汁酸代謝
テトラデカンジオアート(C14)	脂肪酸、ジカルボキシラート
トレオナート	アスコルビン酸及びアルダル酸代謝
スレオニン	グリシン、セリン及びスレオニン代謝
チミジン	ピリミジン代謝、チミン含有

【表１－８】

チミン	ピリミジン代謝、チミン含有
チロキシン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
チグロイルグリシン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
チグリルカルニチン(C5)	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
トランス-4-ヒドロキシプロリン	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
トランス-ウロカナート	ヒスチジン代謝
トリメチルアミンN-オキシド	リン脂質代謝
トリプトファン	トリプトファン代謝
チラミン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
チロシン	フェニルアラニン及びチロシン代謝
ウラシル	ピリミジン代謝、ウラシル含有
尿酸	プリン代謝、(ヒポ)キサンチン/イノシン含有
尿素	尿素サイクル;アルギニン及びプロリン代謝
ウリジン	ピリミジン代謝、ウラシル含有
ウルソデオキシコラート	二次胆汁酸代謝
バレリルフェニルアラニン	ジペプチド
バリン	ロイシン、イソロイシン及びバリン代謝
キサンチン	プリン代謝、(ヒポ)キサンチン/イノシン含有
キサントシン	プリン代謝、(ヒポ)キサンチン/イノシン含有

【００６２】

複数の研究を行って、尿及びＣＳＦ試料における計１７６種の化合物の性能を評価した。これらの研究において、分析体についての分析性能を、上で記載した、従来の現在許容される実行に従い、評価し、検証した。ＣＳＦ及び尿における第１の分析において評価し、完全に分析的に検証された１３２種の化合物の代表的なリストを、表２に提示する。表２はまた、それぞれの化合物と関連する生化学経路を含む。

【表２－１】

表2:完全に分析的に検証した生化学物質及び関連する生化学経路(尿及びCSF)

生物学ファミリー	生化学物質
炭水化物、グリコーシス	1,5-アンヒドログルシトール(1,5-AG)
ヌクレオチド	2'-デオキシアデノシン
ヌクレオチド、プリン代謝	2'-デオキシイノシン
ヌクレオチド	2'-デオキシグアノシン
アミノ酸、リシン代謝	2-アミノアジパート
脂質、脂肪酸	2-アミノヘプタノアート
アミノ酸、BCAA代謝	2-ヒドロキシ-3-メチルバレラート
脂質、脂肪酸ジカルボキシラート	2-ヒドロキシグルタラート
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	2-ヒドロキシフェニル酢酸塩
アミノ酸、BCAA代謝	2-メチルブチリルカルニチン(C5)

【表２－２】

エネルギーTCA回路	2-メチルシトラート
生体異物、安息香酸代謝	2-メチルヒプラート
脂質、脂肪酸合成	2-メチルマロニルカルニチン
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	2-ペンタミド-3-フェニルプロパン酸
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	3-(3-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸塩
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	3-(4-ヒドロキシフェニル)ラクタート
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	3,4-ジヒドロキシフェニルアセタート
アミノ酸、BCAA代謝	3-ヒドロキシ-2-メチルブチラート
アミノ酸、BCAA代謝	3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオナート
脂質、ケトン体	3-ヒドロキシブチラート
アミノ酸、BCAA代謝	3-ヒドロキシイソブチラート
脂質、モノヒドロキシ脂肪酸	3-ヒドロキシプロパノアート
アミノ酸、BCAA代謝	3-メチル-2-オキソブチラート
アミノ酸、BCAA代謝	3-メチル-2-オキソバレラート
脂質、ジカルボン酸	3-メチルアジパート
アミノ酸、BCAA代謝	3-メチルクロトニルグリシン
ヌクレオチド、ピリミジン代謝	3-ウレイドプロピオン酸塩
尿素回路、エネルギー代謝	3-グアニジノブタノアート
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	4-ヒドロキシフェニルアセタート
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	4-ヒドロキシフェニルピルバート
アミノ酸、BCAA代謝	4-メチル-2-オキソペンタノアート
脂質、ジカルボン酸	4-オクテネジオアート
生体異物、安息香酸代謝	4-フェニルブチラート
ヌクレオチド、ピリミジン代謝	4-ウレイドブチラート
ヌクレオチド、ピリミジン代謝	5,6-ジヒドロウラシル
脂質、モノヒドロキシ脂肪酸	5-ヒドロキシヘキサノアート
アミノ酸、ポリアミン代謝	5-メチルチオアデノシン(MTA)
ヌクレオチド、プリン代謝	7-メチルグアノシン
脂質、アシルカルニチン	アセチルカルニチン
ヌクレオチド、プリン代謝	アデニン
ヌクレオチド、プリン代謝	アデノシン
脂質、ジカルボン酸	アジパート
ヌクレオチド、プリン代謝	アラントイン
アミノ酸、BCAA代謝	アロ-イソロイシン
アミノ酸、BCAA代謝	アルファ-ヒドロキシイソカプロン酸
アミノ酸、BCAA代謝	アルファ-ヒドロキシイソバレラート
脂質、ポリ不飽和脂肪酸	アラキドン酸(20:4n6)
アミノ酸、尿素回路	アルギニン
アミノ酸、尿素回路	アルギニノコハク酸塩

【表２－３】

アミノ酸、アラニン及びアスパラギン酸代謝	アスパラギン
アミノ酸、アラニン及びアスパラギン酸代謝	アスパルタート
生体異物、薬物	安息香酸
アミノ酸、BCAA代謝	ベータ-ヒドロキシイソバレラート
ビタミン及び補助因子	ビオチン
脂質、カルニチン	カルニチン
アミノ酸、尿素回路	シトルリン
尿素回路、エネルギー代謝	クレアチン
尿素回路、エネルギー代謝	クレアチニン
グルタチオン代謝	システイン-S-スルファート
ヌクレオチド、ピリミジン代謝	シチジン
脂質、アシルカルニチン	デカノイルカルニチン(C10)
脂質、カルニチン代謝	デオキシカルニチン
アミノ酸、BCAA代謝	エチルマロナート
ペプチド、ガンマ-グルタミルアミノ酸	ガンマ-グルタミルフェニルアラニン
アミノ酸、グルタミン酸及びグルタミン代謝	グルタミン
アミノ酸、リシン代謝	グルタラート(ペンタネジオアート)
アミノ酸、リシン代謝	グルタリルカルニチン(C5)
アミノ酸、尿素回路	グアニジノ酢酸塩
アミノ酸、グアニジノ代謝	グアニジノコハク酸塩
ヌクレオチド、プリン代謝	グアノシン
脂質、アシルグリシン	ヘプタノイルグリシン
安息香酸代謝	ヒプラート
尿素回路	ホモシトルリン
ヌクレオチド、プリン代謝	ヒポキサンチン
ヌクレオチド、プリン代謝	イノシン
アミノ酸、BCAA代謝	イソブチリルカルニチン
アミノ酸、BCAA代謝	イソロイシン
アミノ酸、BCAA代謝	イソバレラート
アミノ酸、BCAA代謝	イソバレリルカルニチン
アミノ酸、BCAA代謝	イソバレリルグリシン
炭水化物、解糖	乳酸
脂質、アシルカルニチン代謝	ラウリルカルニチン
アミノ酸、BCAA代謝	ロイシン
アミノ酸、リシン代謝	リシン
アミノ酸、硫黄代謝	メチオニン
生体異物、安息香酸代謝	メチル-4-ヒドロキシ安息香酸
脂質、アシルカルニチン代謝	メチルマロナート
アミノ酸、BCAA代謝	メチルコハク酸塩
脂質、アシルカルニチン	ミリストイルカルニチン
ヌクレオチド	N1-メチルアデノシン
ヌクレオチド、プリン代謝	N2,N2-ジメチルグアノシン

【表２－４】

アミノ酸、リシン代謝	N2-アセチルリシン
ヌクレオチド、プリン代謝	N2-メチルグアノシン
アミノ酸、リシン代謝	N6-アセチルリシン
ヌクレオチド、プリン代謝	N6-スクシニルアデノシン
アミノ酸、リシン代謝	N6-トリメチルリシン
アミノ酸、尿素回路	N-アセチルアルギニン
アミノ酸、BCAA代謝	N-アセチルロイシン
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	N-アセチルフェニルアラニン
ヌクレオチド、ピリミジン代謝	N-カルバモイルアスパルタート
脂質、アシルカルニチン	N-オクタノイルグリシン(C8エステル)
脂質、アシルカルニチン代謝	オクタノイルカルニチン(C8)
アミノ酸、尿素回路	オルニチン
ヌクレオチド、ピリミジン代謝	オロト酸
脂質、アシルカルニチン	パルミトイルカルニチン
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	フェニルアセチルグルタミン
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	フェニルアセチルグリシン
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	フェニルアラニン
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	フェニルラクタート(PLA)
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	フェニルプロピオニルグリシン
ジペプチド	プロ-ヒドロキシ-プロ
アミノ酸、BCAA代謝	プロピオニルグリシン
アミノ酸、BCAA代謝	プロピオニルカルニチン
アミノ酸、硫黄代謝	S-アデノシルホモシステイン(SAH)
脂質、ジカルボン酸	セバシン酸塩(C8)
脂質、ジカルボン酸	スベリン酸塩(オクタンジオアート)
エネルギー、TCA回路	コハク酸塩
生体異物、化学物質	スクシニムド
エネルギー、TCA回路	スクシニルカルニチン
ヌクレオチド、ピリミジン	チミン
アミノ酸、BCAA代謝	チグロイルグリシン
アミノ酸、BCAA代謝	チグリルカルニチン
アミノ酸、プロリン	トランス-4-ヒドロキシプロリン
コリン代謝	トリメチルアミンN-オキシド
アミノ酸、芳香族アミノ酸代謝	チロシン
ヌクレオチド、ピリミジン	ウラシル
ヌクレオチド、プリン代謝	尿酸
アミノ酸、尿素回路	尿素
ヌクレオチド、ピリミジン代謝	ウリジン
アミノ酸、BCAA代謝	バリン
ヌクレオチド、プリン代謝	キサンチン
ヌクレオチド、プリン代謝	キサントシン

【００６３】

加えて、完全な検証分析を複数のプラットフォーム上で行い、プラットフォーム間の精密度を決定し、複数の器具システムに渡る検証の再現性を評価した。プラットフォーム間の精密度について採用基準は、計算した％ＣＶに基づいた。プラットフォーム間の精密度（％ＣＶ）は、代謝産物により異なり、２．７％という低さ～２９７％という高さの範囲であった。しかしながら、圧倒的多数の代謝産物についてのプラットフォーム間の精密度は、４０％未満であり（２７６のうち２４２）、２０％よりずっと低かった（２７６のうち２３４）。

【００６４】

代表的な分析検証条件、それぞれの条件について行った分析、表１及び表２に上げた分析体について得た採用基準及び結果（通過／失敗）を、表３において概説する。分析検証分析を、血液（血漿、血清）、尿及びＣＳＦ試料において行い、マトリックス効果を決定した。

【表３－１】

表 3.分析検証条件、行った分析、採用基準及び結果

分析検証条件	行った分析	採用基準	結果
精密度(日内)	それぞれの試料についての%変動係数(CV)を決定する	全%CV≦25%	通過
精密度(日間)	全ての日に渡り及びそれぞれの日についてそれぞれの試料についての%CV を決定する	全%CV≦25%	通過
較正標準の直線性	1. 予想した濃度に対する実際の濃度をプロットして、結果が直線性であるかを見る;R^2値を決定する 2. %系統誤差(SE):[(実際−理論)/理論]×100]を計算する	1. R^2≧0.8 2. %SE は、最低濃度ポイントにて±20%内、及び他の濃度にて±15%内であるべきである	1. 通過 2. 通過

【表３－２】

患者標本の直線性	1. 予想した濃度に対する実際の濃度をプロットして、結果が直線性であるかを見る;R^2値を決定する 2. %SE を計算する	1. $R^2 \geqq 0.8$ 2. %SE は、低及び高 QC レベルの間の濃度にて±20%内であるべきである	1. 通過 2. 通過
検出/定量限界	1. %CV を、それぞれの試料について、日内と日間の両方について決定する 2. それぞれの結果について、シグナル対ノイズ比を決定する	1. LLOQ におけるそれぞれの試料の%CV は、25%を超えてはならない 2. シグナル対ノイズ比は、少なくとも 3:1 でなければならない	1. 通過 2. 通過
回収	過剰に加えた QC 試料におけるオリジナルの分析体濃度を再度計算し、%偏り:[(レベル X−対照)/対照]×100 を決定する	計算した平均濃度は、QC 対照における濃度の±15%内であるべきである	通過

【表３－３】

干渉研究	1. それぞれのレベルについて%偏りを計算する 2. 治療レベルの医薬を低及び高 QC に加え、対照低及び高 QC に対する%偏りを評価する 3. それぞれのマトリックスチューブタイプを比較し、%相違:[(タイプ 1-タイプ 2)/平均]×100 を計算する 4. 水並びに変動するチューブタイプにおいて保存された低及び高 QC 試料を抽出することにより、分析体の保持時間におけるピークの存在をチェックする 5. 異性体を含むブランク試料を加え、分析体の保持時間における干渉についてチェックする。干渉が分析体に類似の保持時間にて存在するなら、およそ生物学的レベルの異性体を含む低及び高 QC 試料を加え、QC の定量が影響されないことを検証する	1. %偏りは、±15%を超えないべきである 2. %偏りは、±15%を超えないべきである 3. %相違は、±15%を超えないべきである 4. 水を抽出するとき、分析体ピークが溶出する MS ピークが存在しない。マトリックスについて、定量は、±15%より多く影響されるべきではない。 5. 分析体ピークが溶出する MS ピークが存在しない。QC 添加が必要なら、次に、QC における分析体定量の正確さが、±15%より多く影響されるべきではない。	1.溶血-全ての分析体が通過 脂肪血症-通過 2.通過 3.全ての分析体が通過 4.LLOQ より大きなピークを、分析体又は内部標準の保持時間近くで検出しなかった。%偏りは、マトリックスにおける全ての分析体について許容可能であった。 5.異性体のいずれとも干渉は存在しない。QC 添加は必要でなかった。

【表３－４】

試料安定性試験	凍結融解安定性: 凍結融解安定性を、従前の検証において試験し、複数回の凍結融解の衝撃は、それらの検証において試験した分析体のサブセットについて有意であることを見出した。凍結融解は、これらの試料について推奨されない。そのため、凍結融解は、この検証において試験しなかった。 4℃/氷浴安定性: 4℃にて 1、2、4、及び 24 時間保存した 2 種の血漿 QC 試料のトリプリケートの試料を分析した。	それぞれの試料安定性試験プロトコールについて%相違を計算した: [(時間ポイント X−時間ポイント 0)/(時間ポイント 0)]×100=%相違	通過 通過

【表３－５】

キャリーオーバー	キャリーオーバーを、表１において挙げた生化学物質のそれぞれについての４種のプラットフォームのそれぞれにおいて評価し、生化学標準及び検出の限界セクション(上を参照)の直線性の一部として分析した。具体的には、2種のプロセスブランクを、それぞれの実行について直線性連続希釈液における最高の標準曲線試料の後に含めた。第１のブランクは、インジェクターキャリーオーバー試料として機能し、第２のブランクは、カラムキャリーオーバーブランクとして機能する。	LOD/直線性希釈連続物における最高濃度の加えた化合物(すなわち、10,000ng/mL)を含む試料、インジェクターブランク、及びキャリーオーバーブランクについての未処理のイオン強度を決定した。2種のブランクのイオン強度を足し、希釈連続物における高濃度に対するパーセントキャリーオーバーを計算することにより、%トータルキャリーオーバーを規定する。 (プロセスブランクにおける分析体面積)/(希釈連続物中の最終複製物における分析体面積)×100。	通過

【００６５】

（例２）

生化学物質性能の合理化された評価

例１において記載した完全な分析検証後、合理化された分析検証分析を行い、日間精密度及び日内精密度を評価した。完全に分析的に検証した化合物（表１及び表２）の性能を使用して、約４，０００種の生化学物質の性能を評価した。およそ４０００種の生化学物質の性能を、２種の分析検証条件：日内精密度及び日間精密度を使用して評価した。日内及び日間精密度についての性能値を、生化学物質のそれぞれについてのパーセント占有（％占有）及びＣＶに基づき計算した。％占有についての日内精密度についての採用基準は、１日（本明細書において実行日として言及する）において実行した技術複製試料の全て又は大部分（例えば、７０％以上、好ましくは８０％以上）における生化学物質の検出に基づいた。ＣＶについて日内精密度についての採用基準は、３０％以下のＣＶであった。％占有について日間精密度についての採用基準は、複数日に渡り実行した複製試料の全て又は大部分（例えば、７０％以上、好ましくは８０％以上）における生化学物質の検出に基づいた。ＣＶについて日間精密度についての採用基準は、２５％ＣＶ以下であると決定した。

【００６６】

日内精密度分析。日内精密度分析のため、プールした参照試料の４種の技術複製物を、１０の別々の実行日における血漿、尿、及びＣＳＦのそれぞれについて使用した。

【００６７】
生化学物質の日内精密度分析のための採用基準は、１日で実行した技術複製試料における生化学物質の検出に基づいた。１日で実行した技術複製試料の全４種（１００％占有）において検出した生化学物質は、日内精密度についての％占有採用基準に合致すると決定した。％ＣＶをまた使用して、性能を評価した。３０％以下のＣＶを有すると決定した生化学物質は、％ＣＶ採用基準に合致し、日内精密度についての許容可能な性能を有すると決定した。
【００６８】
一般的な方法のセクションにおいて記載した通り、ＬＣ－ＭＳにより分析した血漿試料（Ｎ＝４０）における生化学物質について、日間精密度を評価した。６７０種の固有の生化学物質を、１日での技術複製試料の１００％（すなわち、１００％占有）において検出し、％占有採用基準に合致し、日内精密度についての許容可能な性能を有することを決定した。これらの６７０種の生化学物質についての平均の％ＣＶは、１０．１％であり、中央値は７．２％であった。
【００６９】
試料のサブセットを使用して、日内精密度についての生化学物質の性能は、％ＣＶ及び％占有採用基準に基づき評価した。試料のこのサブセットにおいて、５８０種の生化学物質を、１日における技術複製試料の１００％において検出した。これらの５８０種の分析体のうち、１６６種を、従前に分析的に検証し（表１）、一方、４１４種を従前には検証しなかった。従前には分析的に検証していない４１４種のうち、３８７種は、％ＣＶ＜３０％を有していた。これらの３８７種の生化学物質は、採用基準に合致し、日内精密度（１００％占有、％ＣＶ＜３０）についての許容可能な性能を有すると決定し、これは、日内精密度を使用して記載した合理化された性能評価が、合理化された有効な方法で血清及び血漿における分析的に検証した分子の数を拡大し得ることを示している。
【００７０】
例えば、イソバレラートを、最初の完全な評価において完全に分析的に検証しなかった。合理化された評価において、％占有は、１００％であり、イソバレラートの％ＣＶは、血漿試料において０．９％～１５％の範囲内であり、平均５．１％及び中央値３．１％を伴った。これらの性能測定を使用し、イソバレラートは、合理化された評価を使用して、分析検証について許容可能であると決定した。同じ試料において、イソバレラートと生化学的に関連し、完全なセットの条件を使用して従前に完全に分析的に検証した分子であるイソバレリルカルニチンでは、％占有は１００％であり、ＣＶは、３％～１４．４％の範囲にあり、平均７．５％及び中央値７．１％であった。
【００７１】
評価した試料（％占有）の全て又は大部分において検出したさらなる代表的な生化学物質は、以下を含む：１）ピペコリン酸は、％ＣＶ範囲０．９％～１１．７％、平均６％、及び中央値５．９％を有し、２）チロシン代謝と関連する４種の分子を、完全に分析的に検証し、合理化された分析において評価した１０種の関連する分析体を、日内精密度分析において検出し、全１０種が、低ＣＶを示し；３）尿素サイクル；アルギニン及びプロリン代謝と関連する、８種の分子を、完全な分析において評価し、検証し、４種の他の分子を、合理化された分析において検出し、全４種が、低ＣＶを示し；４）炭水化物代謝と関連する、４種のサブファミリーに渡る９種の分子を、完全な評価を使用して検証し；１０種のさらなる分子を、合理化された分析を使用して検証した。
【００７２】
上の一般的な方法のセクションにおいて記載した通り、ＬＣ－ＭＳにより分析した尿試料（Ｎ＝４０）における生化学物質について、日内精密度を決定した。１日で技術複製試料の１００％（すなわち、１００％占有）において検出した５６８種の固有の生化学物質は、日内精密度について許容可能な性能を有すると決定した。これらの５６８種の生化学物質についての平均の％ＣＶは、８．１％であり、中央値は５．９％であった。
【００７３】

試料のサブセットを使用して、日内精密度についての生化学物質の性能を、％ＣＶ及び％占有に基づき評価した。この試料サブセットにおいて、４４２種の生化学物質を、１日における技術複製試料の１００％において検出した。これらの４４２種の分析体のうち、１３８種を、例１において記載した完全な分析を使用して検証したが、一方、３０４種の生化学物質を従前には検証していなかった。従前には検証していない３０４種のうち、２９６種は、％ＣＶ＜３０％を有していた。これらの２９６種の生化学物質は、％占有及び％ＣＶについての採用基準に合致し、日内精密度について許容可能な性能を有すると決定し、これは、日内精密度を使用した記載した合理化された性能評価を使用して、合理化された有効な方法において尿における分析的に検証した分子の数を拡大し得ることを示している。

【００７４】

例えば、ジヒドロビオプテリンを、従前の完全な分析検証研究において評価しなかった。それを、試料の全て（１００％占有）において検出し、ジヒドロビオプテリンの％ＣＶは、尿試料において２．２％～２０．８％の範囲にあり、平均７．９％及び中央値７．１％を伴った。これらの性能測定を使用して、ジヒドロビオプテリンは、採用基準に合致すると決定し、合理化された分析を使用して分析検証について許容可能であった。同じ試料において、ジヒドロビオプテリンと生化学的に関連し、完全なセットの条件を使用して従前に検証した分子であるグルコースは、２．２％～１４．７％の範囲にあるＣＶ、平均６．３％及び中央値４．７％を有した。

【００７５】

さらなる例は以下を含む：１）完全な評価を使用して、グルタミン酸代謝サブファミリー：グルタミン及び２－ピロリジノンを検証された。生化学的に関連する分子Ｎ－アセチルグルタミン、ピログルタミン、グルタミン酸、ガンマ－カルボキシグルタミン酸、Ｎ－アセチル－アスパルチル－グルタミン酸（ＮＡＡＧ）、カルボキシエチル－ＧＡＢＡ、Ｎ－アセチルグルタミン酸、Ｎ－メチル－ＧＡＢＡ、及び４－ヒドロキシグルタミン酸もまた、試料において測定され、合理化された方法を使用して評価されたとき、全てが＜３０％ＣＶを有した；２）拡大した生化学物質カバーレージを有する別のスーパーファミリーは、一次及び二次胆汁酸、ジカルボン酸及びヌクレオチドスーパーファミリーのようないくつかのサブファミリーを含む脂質スーパーファミリーであった。

【００７６】

上の一般的な方法のセクションにおいて記載した通り、ＬＣ－ＭＳにより分析したＣＳＦ試料（Ｎ＝４０）における生化学物質について、日内精密度を決定した。１日での技術複製試料の１００％において検出した計３４６種の固有の生化学物質は、採用基準に合致し、日内精密度についての許容可能な性能を有すると決定した。これらの３４６種の生化学物質についての平均％ＣＶは、１１．８％であり、中央値は８．６％であった。

【００７７】

試料のサブセットを使用して、日内精密度についての生化学物質の性能を評価した。試料のこのサブセットにおいて、２８６種の生化学物質を、１日における技術複製試料の１００％において検出した。これらの２８６種の分析体のうち、９４種を完全に分析的に検証し、一方、１９２種を、完全な評価において検証しなかった。完全には検証していない１９２種のうち、１８２種は、％ＣＶ＜３０％を有していた。これらの１８２種の生化学物質は、％占有及び％ＣＶ採用基準に合致し、日内精密度について許容可能な性能を有すると決定し、これは、日内精密度を使用した記載した合理化された性能評価を使用して、合理化された有効な方法においてＣＳＦにおける分析的に検証した分子の数を拡大し得ることを示している。

【００７８】

例えば、アセチルカルニチンを、完全な分析検証研究において評価しなかった。それを、試料の全てにおいて検出し、アセチルカルニチンの％ＣＶは、ＣＳＦ試料において２．１％～２５．８％の範囲にあり、平均１３％及び中央値１０．５％を伴った。これらの性能測定を使用して、アセチルカルニチンは、採用基準に合致すると決定し、合理化された

分析を使用して分析検証について許容可能であった。同じ試料において、アセチルカルニチンと生化学的に関連し、完全なセットの条件を使用して従前に検証した分子であるグルタミンは、２％～７．８％の範囲にあるＣＶ、平均５．３％及び中央値５．５％を有した。

【００７９】

合理化された検証を使用して、評価し、分析的に検証された代謝産物のさらなる例は、１）グリシン、セリン及びスレオニン代謝サブファミリーにおける生化学物質：ベタイン、ジメチルグリシン、グリシン、Ｎ－アセチルグリシン、Ｎ－アセチルセリン、Ｎ－アセチルスレオニン、セリン、及びスレオニン；２）チロシン代謝サブファミリーにおける生化学物質：３－（４－ヒドロキシフェニル）ラクタート、３－メトキシチラミンスルファート、３－メトキシチロシン、ドーパミン３－Ｏ－スルファート、ホモバニラート（ＨＶＡ）、フェノールスルファート、及びチロシンを含む。チロシン及び３－（４－ヒドロキシフェニル）ラクタートを、完全な分析において評価し、同様に完全な分析検証研究を通過させた。

【００８０】

日間精密度分析。日間精密度分析のため、３０種の血漿試料、４４種の尿試料、及び３２種のＣＳＦ試料を、２回の独立した分析において分析した。

【００８１】

生化学物質の日間精密度分析のための採用基準は、１５日間の試料実行に渡る技術複製試料における生化学物質の検出に基づいた。全ての１５日間の試料実行に渡る技術複製試料の少なくとも８０％（すなわち、８０％占有）において検出した生化学物質は、％占有採用基準に合致し、日間精密度の許容可能な性能を有すると決定した。％ＣＶに基づく代替の採用基準も使用した。２５％未満のＣＶを有すると決定した生化学物質は、％ＣＶ採用基準に合致し、日間精密度についての許容可能な性能を有すると決定した。

【００８２】

上の一般的な方法のセクションにおいて記載した通り、ＬＣ－ＭＳにより分析した血漿試料における生化学物質について、日間精密度を評価した。１つの例において、３０種の血漿試料を使用して、５２３種の生化学物質が、複数の日に渡り分析した試料の少なくとも８０％において検出されていた％占有採用基準に合致した。日間精密度についてのこれらの生化学物質の全ての性能を、ＣＶを使用してさらに評価した。この例において、５２３種のうち４４３種の生化学物質はまた、２５％未満のＣＶを有し、％ＣＶ採用基準に合致し、日間精密度について許容可能な性能を有すると決定し；４４３種のうち１６３種が、完全に分析的に検証された分子を提示した（表１）。記載した合理化された性能評価方法を使用して、採用基準に合致し、日間精密度についての許容可能な性能を有すると決定した、完全には検証していない２８０種の生化学物質が存在した。

【００８３】

別の例において、３０種の血漿試料の独立したセットを使用して、５０７種の生化学物質が、複数の日に渡り分析した試料の少なくとも８０％において検出されていた％占有基準に合致した。日間精密度についてのこれらの生化学物質の全ての性能を、ＣＶを使用してさらに評価した。この例において、５０７種のうち４１０種の生化学物質はまた、２５％未満のＣＶを有し、％ＣＶについての採用基準に合致し、日間精密度について許容可能な性能を有すると決定し；４１０種のうち１４８種が、完全に分析的に検証された分子を提示する（表１）。記載した合理化された性能評価方法を使用して、採用基準に合致し、日間精密度についての許容可能な性能を有すると決定した、完全には検証していない２６２種の生化学物質が存在した。

【００８４】

上の一般的な方法のセクションにおいて記載した通り、ＬＣ－ＭＳにより分析した尿試料における生化学物質について、日間精密度を評価した。１つの例において、４４種の尿試料を使用して、４５７種の生化学物質が、複数の日に渡り分析した少なくとも８０％の試料において検出されていた％占有採用基準に合致した。日間精密度についてのこれらの生化学物質の全ての性能を、ＣＶを使用してさらに評価した。この例において、４５７種

のうち４０８種の生化学物質はまた、２５％未満のＣＶを有し、採用基準に合致し、日間精密度について許容可能な性能を有すると決定し；４０８種のうち１６２種が、完全に分析的に検証された分子を提示する。記載した合理化された性能評価方法を使用して、採用基準に合致し、日間精密度についての許容可能な性能を有すると決定した、完全には検証していない２４６種の生化学物質が存在した。

【００８５】

別の例において、４４種の尿試料の独立したセットを使用して、４４５種の生化学物質が、複数の日に渡り分析した試料の少なくとも８０％において検出されていた％占有基準に合致した。日間精密度についてのこれらの生化学物質の全ての性能を、ＣＶを使用してさらに評価した。この例において、４４５種のうち３７０種の生化学物質はまた、２５％未満のＣＶを有し、％ＣＶ採用基準に合致し、日間精密度について許容可能な性能を有すると決定し；３７０種のうち１４７種が、完全に分析的に検証された分子を提示する。記載した合理化された性能評価方法を使用して、採用基準に合致し、日間精密度についての許容可能な性能を有すると決定した、完全には検証していない２２３種の生化学物質が存在した。

【００８６】

上の一般的な方法のセクションにおいて記載した通り、ＬＣ－ＭＳにより分析したＣＳＦ試料における生化学物質について、日間精密度を決定した。１つの例において、複数の日に渡り分析した試料の少なくとも８０％において検出した生化学物質のうち、３２種のＣＳＦ試料を使用して、２１２種の生化学物質はまた、２５％未満のＣＶを有していた。これらの生化学物質は、採用基準に合致し、日間精密度について許容可能な性能を有すると決定し；８６種が、完全に分析的に検証された分子を提示する。記載した合理化された性能評価方法を使用して、採用基準に合致し、日間精密度についての許容可能な性能を有すると決定した、完全には検証していない１２６種の生化学物質が存在した。

【００８７】

別の例において、複数の日に渡り分析した試料の少なくとも８０％において検出した生化学物質のうち、３２種のＣＳＦ試料の独立したセットを使用して、２１０種の生化学物質はまた、２５％未満のＣＶを有していた。これらの生化学物質は、採用基準に合致し、日間精密度について許容可能な性能を有すると決定し；８５種が、完全に分析的に検証された分子を提示する。記載した合理化された性能評価方法を使用して、採用基準に合致し、日間精密度についての許容可能な性能を有すると決定した、完全には検証していない１２５種の生化学物質が存在した。

【００８８】

プラットフォーム間の精密度。試験試料１（Ｔ１）及び試験試料２（Ｔ２）として言及する、２種のプールしたヒトＥＤＴＡ血漿試料を使用して、精密度を評価した。それぞれの試験試料を、上で記載した６（６）種の異なるＥＤＴＡ血漿試料をプールすることにより生成した（すなわち、６人の健常な成人の血漿試料をプールして、試験試料１を生成し、試験試料１を生成するために使用した試料と異なる６人の健常な成人の血漿試料をプールして、試験試料２を生成した）。稀な代謝産物と称した、ある種の代謝産物を、疾患患者試料ばかりなく、健常個体由来の試料において観察した。これらの稀な代謝産物は、試験試料１及び２において存在しないので、それらを、これらのプールした試料に加えて、プラットフォームにおいて性能を評価した。２種の試験試料を、それぞれ５日間に渡り、５種の複製物を用いて全４種のプラットフォーム（Ｑ、Ｒ、Ｓ及びＴ）において実施した。

【００８９】

プラットフォーム間（器具システム間）の精密度を決定するために、健常ボランティア（すなわち、標準化マトリックス）から集めた血漿試料のはめ込んだプールを含め、これを使用して、５日間（１～５日目）に渡る試験試料を標準化した。およそ半分が女性及び半分が男性である、２６人の健常成人ボランティア由来の血漿試料のアリコートから作製した９種の試料プールを、それぞれの試料バッチを用いて、試験試料複製物と一緒に実行した。それぞれの化合物についてのプラットフォーム間の精密度を、全５日間に渡るそれ

ぞれの複製試料（すなわち、５種の複製物×５日）及び４種の独立した器具プラットフォームに渡るそれぞれの複製試料についての標準化した未処理の強度値の％ＣＶ（すなわち、それぞれの化合物の未処理のイオン強度／はめ込んだプール試料における化合物の平均の未処理のイオン強度）を計算することにより、評価した。

【００９０】

マトリックス試料の標準化を使用して、プラットフォームＲ上で２０６（Ｔ１）／２０７（Ｔ２）種の化合物の技術複製物のアッセイ間の精密度を計算して、それぞれ、試験試料１（Ｔ１）及び試験試料２（Ｔ２）について平均％ＣＶ８．７％及び１１．５％を決定した。加えて、全５日間において、全プラットフォームに渡り測定した１７３（Ｔ１）／１７４（Ｔ２）種の化合物の精密度は、それぞれ、１０．２％及び１１．５％の平均のプラットフォーム間のＣＶを示した。これらの結果に基づき、代謝産物は採用基準に合致し、許容可能な性能を有すると決定した。

フロントページの続き

(33)優先権主張国・地域又は機関
米国(US)

(56)参考文献 国際公開第２０１５／１６１０７８（WO，Ａ１）
H PEREIRA、外４名，Development and validation of a UPLC/MS method for a nutritional metabolomic study of human plasma，Metabolomics，2009年11月04日，Vol.6，Page.207-218，DOI 10.1007/s11306-009-0188-9
DONG ZHEN 外３名，A UHPLC-MS/MS method for profiling multifunctional steroids in human hair，Analytical and Bioanalytical Chemistry，2017年，Vol.409，Page.4751-4769，URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-017-0419-2
MAUD.M.KOEK 、外４名，Quantitative metabolomics based on gas chromatography mass spectrometry: status and perspectives，Metabolomics，2011年，Vol.7，Page.307-328，URL: https://link.springer.com/article/10.1007/s11306-010-0254-3
TIAGO F JORGE、外２名，Mass spectrometry as a quantitative tool in plant metabolomics，Royal Society of London, Phil.Trans.，2016年05月16日，A374, 20150370，Page.1-25，URL: https://royalsocietypublishing.org/doi/full/10.1098/rsta.2015.0370

(58)調査した分野 (Int.Cl.，ＤＢ名)
Ｇ０１Ｎ ３５／００－３７／００
Ｇ０１Ｎ ２７／６２
Ｇ０１Ｎ ３３／４８－３３／９８