

CE-MS 联用技术对癌症病人血清代谢组学分析

目的

通过电渗流泵驱动的同轴鞘流液 EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源, 实现毛细管区带电泳与高分辨质谱联用 (CZE-MS) 对癌症病人进行血清代谢组学的分析。

背景

代谢组学是系统生物学的重要组成部分, 其研究对象多是分子量在 1,000Da 以内的小分子物质。代谢组学对生物系统中由疾病或治疗方法导致的内源性代谢物水平变化的评估, 已成为筛选各种疾病潜在的诊断标志物和检测给药后产生的药理/毒理学效应的重要方法。目前大多数代谢组学分析采用 GC-MS、LC-MS 和核磁共振波谱等方法, 但在分析强极性和离子态的代谢物时, 这些技术均难以取得满意的结果, CE 在工作原理上非常适合于极性和带电化合物的分离, 比如核酸、磷酸化多糖、氨基酸、有机酸和生物胺等, CE 基于这些化合物的电荷-质量比的差异进行分离, 分离机制与 LC 和 GC 有着根本的不同。因此, CE 可以提供关于生物样本更多独特的有价值的代谢组学信息。除此之外, CE 对有机溶剂的消耗非常少, 所需样品量也非常少(纳升级别), 同时离采用简单的熔融石英毛细管而不是昂贵的色谱柱, 分析成本上也具有一定的优势。CE 与 MS 联用不仅可以提高检测的灵敏度, 同时高分辨质谱还可以对 (未知) 代谢物进行鉴定。本方法通过电渗流驱动鞘流液 EMASS-II 型 CE-MS 联用技术, 通过 CZE-MS 联用技术对癌症病人进行血清代谢组学的分析。

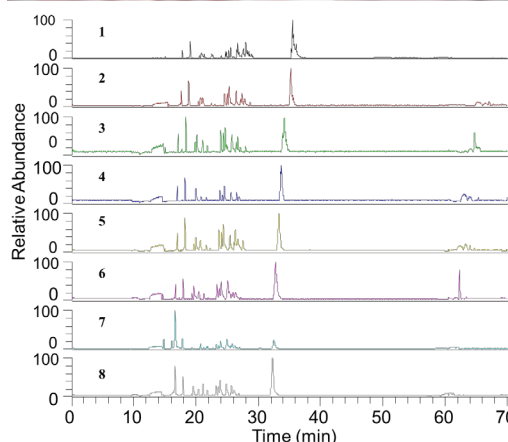


图1. 8位癌症病人血清代谢物的基峰离子电泳图。

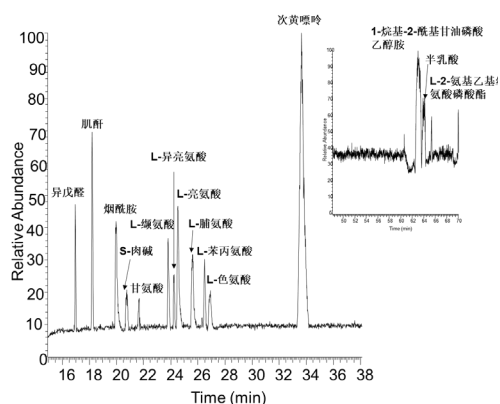


图2. 癌症病人血清中主要代谢物的鉴定结果。

解决方案

仪器试剂:

CMP Scientific ECE-001 型毛细管电泳仪。EMASS-II 型 CE-MS 联用离子源 (CMP Scientific, P/N: EM3001-T)。108cm BFS 分离毛细管 (CMP Scientific, P/N:E-SC-BFS-360/150-50-108-B1)。BGE 为 F420 (CMP Scientific, P/N: F420)。SL 为 F510 (CMP Scientific, P/N: F510)。

实验方法:

样品进样 100mbar, 10s。质谱数据分析采集范围 75-1,125 m/z。分离电压 30kV。外接电源电喷雾电压 2.2kV。

质谱参数:

Thermo Q Exactive Plus 质谱仪, S-Lens 50, Microscan 3。

样本制备:

取100 μL血清, 用有机溶剂沉淀蛋白后, 取上清分析。

代谢物	中文名	来源	m/z
Phosphocreatine	磷酸肌酸	人源	191.1133
D-Erythrose 4-phosphate	D-赤藓糖-4-磷酸	人源	191.1174
N(omega)-Hydroxyarginine	N (ω) -羟基精氨酸	人源	94.0456
5-Methoxytryptamine	5-甲氧基色胺	人源	76.0764
Kynuramine	犬尿胺	人源	133.0999
Trimethylamine N-oxide	氧化三甲胺	人源	147.1122
L-Proline	脯氨酸	人源	130.0862
L-Lysine	赖氨酸	人源	161.1287
N4-Acetylaminobutanol	N4-乙酰胞嘧啶	人源	175.1204
N(6)-Methyllysine	N (6) -甲基赖氨酸	人源	114.0663
L-Arginine	L-精氨酸	人源	227.1238
Creatinine	肌酐	人源	137.0713
(2xi,6xi)-7-Methyl-3-methylene-1,2,6,7-octanetetrol	(2xi, 6xi) -7-甲基-3-亚甲基-1,2,6,7-辛烷醇	人源	287.2453
N-Methylnicotinamide	N-甲基烟酰胺	人源	123.0553
N1,N12-Diacetylsermine	N1, N12-二乙酰精胺	人源	88.0762
Niacinamide	烟酰胺	人源	134.0815
4-Aminobutyraldehyde	4-氨基丁醛	人源	146.1184
alpha-Ketoisovaleric acid	α-酮异戊酸	人源	122.0814
3-Dehydroxycarnitine	3-脱羟基肉碱	人源	144.0769
2-Hydroxybutyric acid	2-羟基丁酸	人源	191.1133
Thymine	胸腺嘧啶	人源	191.1174

表1. 癌症病人血清内源性代谢物鉴定表 (部分)

结果

图1 显示 CZE-MS 系统对 8 位癌症病人血清代谢物的分析结果, 由电泳图可以看出 CE-MS 系统具有很高的稳定性和重现性。值得注意的是, 第 7 位病人次黄嘌呤的峰强度明显低于其他病人, 这很可能提示第 7 位病人跟其他病人在病理学上存在较大差异。图2 显示病人血清中主要代谢物的质谱鉴定结果, 图谱中主要的成分多为强极性化合物, 均可在 CE 中得到基线分离, 其中互为同分异构体的异亮氨酸和亮氨酸也完全做到了基线分离, 这说明 CE-MS 对极性代谢物和同分异构体具有良好的分离效果。本次分析共检测到 782 个质谱峰, 并进一步对这些质谱峰进行了鉴定。表1为病人血清内源性代谢物的部分鉴定结果, 其中内源性代谢物为 86 个, 其这些代谢物多为氨基酸、有机酸、生物胺、核酸和磷酸化多糖等。

总结

在本实验中, 使用 BFS 毛细管建立了新型 CZE-MS 联用方法, 对癌症病人血清进行代谢组学分析。通过 CE-MS 方法可以对血清中极性和同分异构体代谢物进行准确高效地分离和鉴定, 有利于挖掘生物样本中更多的代谢组学信息, 从而进一步扩展代谢组学研究的深度。



扫一扫, 关注永道致远微信

www.evergauge.cn

www.cmpscientific.com

永道致远科学技术有限公司

上海市浦东新区康新公路3399弄26号楼218室