

CZE-MS/MS 对乳腺肿瘤组织的代谢组学研究

目的

本研究通过毛细管区带电泳与质谱联用技术 (CZE-MS/MS) 和其他分析手段对多个转基因小鼠模型中分离出来的乳腺肿瘤进行整体代谢谱分析, 并鉴定由这些致癌基因驱动的独特代谢特征。。

背景

在 20 世纪初, 有研究表明, 积极生长的肿瘤中存在有氧糖酵解活动的增加, 但对导致癌症发展的代谢调控知之甚少。科学家对癌症代谢和致癌驱动基因之间的关系进行探索, 挖掘出具有预后和治疗价值的新的生物标志物和药物靶点。特异性致癌基因的激活或肿瘤抑制因子的失活可以重新编程肿瘤组织的潜在代谢, 但对致癌基因和肿瘤抑制因子的研究却很少。因此, 比较致癌基因诱导的代谢重编程将有助于开发个性化的肿瘤治疗方法, 逆转代谢重编程。本次研究通过CZE-MS/MS分析在5个不同的乳腺癌模型中 (PyMT、PyMT-DB、Wnt1、Her2/neu和C3-TAg) 显著上调/下调的代谢物, 最终确定有助于研究癌症进展或对治疗反应的关键代谢物、代谢途径, 甚至是新的肿瘤代谢物。

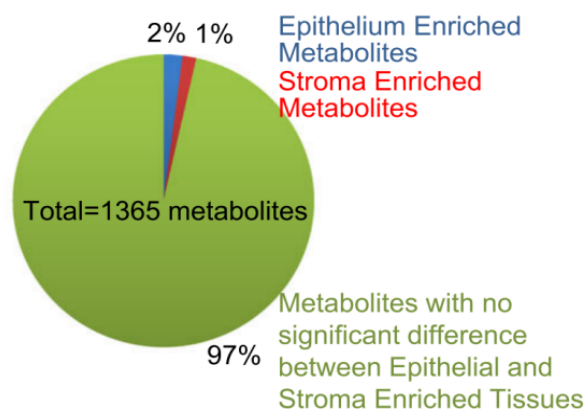


图1. CZE-MS/MS 对上皮细胞富集和间富集的乳腺组织之间代谢差异的分析结果。

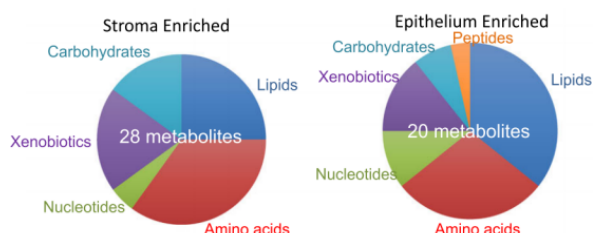


图2. 通过 CZE-MS/MS 分析得到的脂肪细胞富集和上皮细胞富集主要差异代谢物的通路分布图。

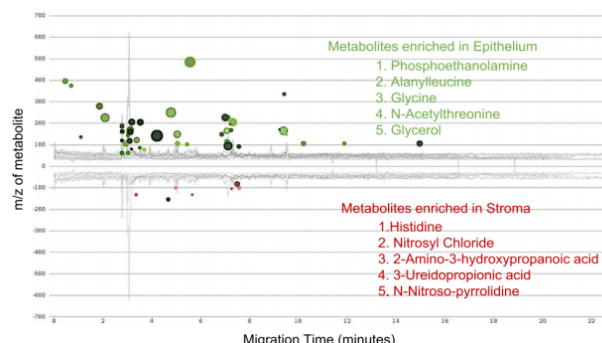


图3. 两组组织中具有显著差异的所有代谢物的云图。

解决方案

仪器条件:

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)。38cm 裸管。背景电解质: 0.5% 乙酸。鞘流液: 0.5% 甲酸和 10% 甲醇。

实验方法:

电喷雾喷针开口: 25 μm 。喷针至质谱距离: 2.0mm。毛细管出口端至喷针尖端距离: 0.3mm。电喷雾电压: 1.2kV。分离电压: 16.6kV。样品进样量: 26nL。

质谱参数:

质谱采集模式: DDA。扫描范围: 100–500m/z。分辨率: 70,000。

样本制备:

CE-MS分析样本: 将脂肪垫和乳头组织均质后, 使用 500 μL 冷乙腈水 (80: 20 v/v) 加入 20mg 组织中, 剧烈震荡 2 分钟, 高速离心, 取上清液在真空浓缩器中干燥保存至分析。

结果

正常乳腺组织主要由脂肪细胞组成, 而乳腺肿瘤中上皮细胞明显较多, 间质较少。为了验证正常组织和肿瘤组织代谢物的差异反映了这些组织代谢的实际差异, 而不是这些组织内细胞的异质性引起的不同细胞类型的代谢物不同。本研究利用快速和分离效率高的 CZE-MS/MS 对肿瘤组织的上皮细胞和基质进行代谢组学分析, 共检测到 1365 种代谢物, 只有 48 种代谢物在上皮细胞和基质富集的组织之间存在显著差异 (图1)。在48种代谢物中, 28 种在上皮富集组织中较高, 20 种在基质富集的组织中含量较高。在 28 种上皮富集的代谢物中, 大多数是氨基酸、脂质和核苷酸代谢物。48 种代谢物占在CZE-MS/MS实验中检测到的代谢物的不到 5% (图2, 图3), 这表明正常和肿瘤组织之间的大多数代谢物差异不是由于细胞异质性引起, 而是癌症发展的代谢变化导致的。

总结

采用基于 EMASS-II 型 CE-MS 联用技术的毛细管区带电泳与质谱联用 (CZE-MS/MS) 平台及其他分析技术, 发现了由一系列致癌基因诱导的乳腺肿瘤的独特代谢特征。通过比较由特定致癌基因诱导的肿瘤模型的代谢物谱, 可以确定由每个致癌基因所调节的不同代谢通路, 为研究乳腺癌过程中癌基因激活和代谢通路间的关系提供了一个独特的视角。