



Universiteit
Leiden

The Netherlands

Capillary electrophoresis-mass spectrometry based metabolomics approaches for volume-restricted applications

Meyer, M. van

Citation

Meyer, M. van. (2023, June 14). *Capillary electrophoresis-mass spectrometry based metabolomics approaches for volume-restricted applications*.

Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3620441>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3620441>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Nederlandse samenvatting

Metabolomics is een krachtige tool om inzicht te verkrijgen in de complexiteit van de menselijke biologie en de pathofysiologie van ziekten. Door het metaboloom te analyseren, wat verwijst naar de verzameling van stofwisselingsproducten (met een massa <1500 Da) die aanwezig zijn binnen een biologisch systeem, kan direct de fysiologische status van een organisme worden verkregen. Metabolomics is naar voren gekomen als een veelbelovende techniek voor neurowetenschappelijk onderzoek, omdat het helpt om licht te werpen op de moleculaire mechanismen die ten grondslag liggen aan neurodegeneratieve en neuropsychiatrische ziekten. Een van de belangrijkste uitdagingen binnen (hersens)metabolomics is de betrouwbare en gevoelige analyse van volume-gelimiterde biologische monsters. Daarom is het van cruciaal belang om betrouwbare en gevoelige analytische workflows te ontwikkelen die de studie van biomedische vragen mogelijk maken in kleine monster hoeveelheden. In dit proefschrift worden innovatieve analytische workflows op microschaal ontwikkeld, gebaseerd op capillaire elektroforese (CE) gekoppeld aan massaspectrometrie (MS), om metabole profielen te genereren in monsters met een beperkt volume. Tot op heden hebben MS-gebaseerde analytische workflows al potentie getoond voor neurologische metabolomics onderzoeken die te maken hebben met kleine monster volumes (**hoofdstuk 2**). CE-MS is echter nog steeds ondervertegenwoordigd in vergelijking met andere chromatografische technieken zoals vloeistofchromatografie (LC)-MS en gaschromatografie (GC)-MS, wat voornamelijk te wijten is aan misvattingen dat de techniek minder robuust, minder gevoelig en minder gebruiksvriendelijk is. Om deze reden is het uiteindelijke doel van dit proefschrift om aan te tonen dat de technische reproduceerbaarheid, detectiegevoeligheid en metabole dekking van CE-MS voldoende zijn om toepassing mogelijk te maken voor verschillende volume-gelimiterde matrices die van belang zijn voor neurowetenschappelijk onderzoek.

Allereerst wordt een interlaboratoriumonderzoek uitgevoerd dat het welbekende probleem van migratietijd variabiliteit in CE-MS aanpakt door migratietijden om te rekenen naar de effectieve mobiliteit schaal (**hoofdstuk 3**), en daardoor de reproduceerbaarheid van CE-MS aanzienlijk vergroot. Bovendien toont de studie de geschiktheid aan van het hanteren van de effectieve mobiliteit parameter als een universeel en betrouwbaar criterium voor piek identificatie in metabolomics. In **hoofdstuk 4** wordt een methode gepresenteerd die gebruik maakt van online preconcentratie van monsters op basis van 'dynamic pH-junction' om de detectielimieten in CE-MS te verbeteren. De methode wordt op een systematische manier geoptimaliseerd met behulp van een Design of Experiments (DoE)-strategie, en is toepasbaar voor de directe profilering van endogene metabolieten in volumegelimiterde (10 μ L) microdialyse monsters van rattenhersenen.

Detectielimieten in het lage nanomolaire bereik worden bereikt voor aminozuur neurotransmitters, wat de potentie van deze methode voor neurologische studies aantoont.

Het volgende hoofdstuk van dit proefschrift richt zich specifiek op op CE-MS gebaseerde metabolomics onderzoeken voor de analyse van polaire anionische verbindingen (doorgaans metabolieten met alleen een carbonzuur als functionele groep), welke normaliter uitdagend te analyseren zijn met behulp van CE-MS (**hoofdstuk 5**). Eerst behandelt **hoofdstuk 5A** de recente methodologische ontwikkelingen op het gebied van anionische metabolieten profilering door middel van CE-MS, inclusief een overzicht van recente toepassingen in verschillende onderzoeksgebieden. Als vervolg hierop rapporteert **hoofdstuk 5B** een nieuwe chemische derivatisering procedure die een permanente positieve lading geeft aan zure metabolieten. Dit maakt hun selectieve analyse mogelijk onder dezelfde omstandigheden als die voor basische metabolieten, waardoor hun detectielimieten aanzienlijk worden verbeterd. De bruikbaarheid van de methode wordt gedemonstreerd voor de analyse van energiemetabolisme-gerelateerde metabolieten in kleine hoeveelheden HepG2-cellen.

In **hoofdstuk 6** ligt de focus op het gebruik van CE-MS voor untargeted metabolomics. Het hoofdstuk presenteert een CE-MS-workflow voor metabole profilering van extracten van individuele zebra-vis larven en samengevoegde monsters van lage aantallen larven. De workflow wordt gebruikt om de specifieke rol van de mineralocorticoid receptor tijdens stress op metaboliet niveaus te bestuderen, en te achterhalen welke mechanismen hierbij van belang kunnen zijn. Multivariate data-analyse wordt gebruikt om differentiële metabolieten te identificeren en onthult verschillende metabolische profielen voor alle groepen. Bovendien suggereren de gegevens dat de mineralocorticoid receptor een belangrijke regulator kan zijn van enzymen die betrokken zijn bij het cystathionine metabolisme en vervolgens belangrijke fysiologische processen beïnvloeden.

Ten slotte wordt in **hoofdstuk 7** een algemene conclusie en discussie gegeven over de ontwikkelde CE-MS workflows voor materiaal gelimiteerde biologische monsters. Het benadrukt het belang van het ontwikkelen van betrouwbare en gevoelige analytische methoden en workflows om de studie van biomedische vragen mogelijk te maken met behulp van een metabolomics benadering. Verdere mogelijke ontwikkelingen en mogelijke richtingen worden ook behandeld in dit hoofdstuk.