

Комбинация атомно-силовой микроскопии и масс-спектрометрии для регистрации целевых белков в образцах сыворотки крови детей с расстройствами аутистического спектра

А.Л. Кайшева¹, Т.О. Плешакова¹, А.Т. Копылов¹, И.Д. Шумов¹, И.Ю. Юров²,
С.Г. Ворсанова², Ю.Б. Юров², А.А. Изотов¹, А.И. Арчаков¹, Ю.Д. Иванов¹

¹Федеральное государственное бюджетное научное учреждение "Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича", 119121, Москва, Российская Федерация
kaysheva1@gmail.com

²Научный центр психического здоровья, 115522, Москва, Российская Федерация;

Показана возможность детекции целевых белков, ассоциированных с развитием аутистических расстройств у детей, с помощью комбинированного метода АСМ/МС. Метод основан на комбинации аффинного обогащения белков из биообразцов, их АСМ-визуализации и МС-анализе с количественной детекцией целевых белков.

Combination of atomic force microscopy and mass spectrometry for the target protein in the serum samples of children with autism spectrum disorders

A.L. Kaysheva¹, T.O. Pleshakova¹, A.T. Kopylov¹, I.D. Shumov¹, I.Y. Iourov², S.G. Vorsanova²,
Y.B. Yurov², A.A. Izotov¹, A.I. Archakov¹, Y.D. Ivanov¹

¹Institute of Biomedical Chemistry, 119121, Moscow, Russia

²Mental Health Research Center, 115522, Moscow, Russia

Possibility of detection of target proteins associated with development of autistic disorders in children with use of combined AFM/MS method is demonstrated. The proposed method is based on the combination of affine enrichment of proteins from biological samples, visualization of these proteins by AFM and MS analysis with quantitative detection of target proteins.

По данным ВОЗ около 67 млн человек во всем мире страдают от аутизма, и его уровень возрастает на 14% каждый год. Из-за сложности постановки диагноза в России официальных данных по количеству детей-аутистов нет. В начале 2000-х гг были аннотированы гены, ассоциированные с развитием аутистических расстройств (РАС), указывая на их наследуемость [1]. Однако, гены, ассоциированные с развитием РАС, не однородны и могут участвовать в развитии других психиатрических и неврологических расстройств [2]. Более полное понимание причин развития аутизма может быть достигнуто путем выявления функциональных белковых маркеров наряду с анализом поведенческих реакций. Для определения биомаркеров заболеваний необходима разработка высокочувствительных и эффективных методов их количественной регистрации в биоматериале [3].

В настоящей работе показана возможность высокочувствительного обнаружения целевых белков в образцах сыворотки крови детей, страдающих РАС. В качестве целевых белков были выбраны следующие мишени – регулятор апоптоза (Bcl-2, UniProt AC P10415), металлотионеин-3 (MT3, UniProt AC P25713) и тимидилатсинтаза (TYMS, UniProt AC P04818). Разработанный метод основан на аффинном концентрировании целевых белков из сыворотки крови на поверхности чипов для атомно-силового микроскопа (АСМ-чипы) с последующей визуализацией сформированных аффинных комплексов в комбинации с масс-спектрометрическим количественным анализом содержания целевых белков в биообразцах. Исследованы 4 контрольных образца сыворотки крови здоровых добровольцев и 5 образцов детей с аутистическими расстройствами, которые были предоставлены Научно-исследовательским клиническим

институтом педиатрии имени академика Ю.Е. Вельтищева ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова.

В результате выполненного АСМ-МС анализа в 2-х образцах крови детей, страдающих РАС, был обнаружен белок Bcl-2 и в 1-м образце – белок TYMS. Оценка количества целевых белков в образцах сыворотки крови детей, страдающих РАС, показала, что обнаруженные белки содержатся в концентрационном диапазоне 1,5-200 пикомоль/л.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 14-25-00132. Шумов И.Д. является получателем стипендии Президента РФ молодым ученым и аспирантам, осуществляющим перспективные научные исследования и разработки по приоритетным направлениям модернизации российской экономики на 2016-2018 годы (СП-4280.2016.4).

1. C.M. Freitag, W. Staal, S.M. Klauck, E. Duketis, R. Waltes, *Psychiatry* **19** (2010).
2. A.G. Garraud, V. Layet, A. Rosier, S. Briault, F. Bonnet-Brilhault, *Arch Gen Psychiatry* **66** (2009).
3. S.L. Hartley, M.M. Seltzer, J.L. Abbeduto, *Int J Behav Dev* **36** (2012).