

## Определение степени изомеризации аспарагиновой кислоты в $\beta$ -амилоиде мозга мышей

Научный руководитель – Бугрова Анна Евгеньевна

Стрельникова П.А.<sup>1</sup>, Юсупов А.Э.<sup>2</sup>

1 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail*: *strelnikova.pa@phystech.edu*; 2 - Московский физико-технический институт, Москва, Россия, *E-mail*: *adel.yusupov@phystech.edu*

Болезнь Альцгеймера (БА) - наиболее распространенная форма деменции среди людей пожилого возраста. Одним из характерных гистопатологических признаков заболевания являются агрегаты  $\beta$ -амилоидных ( $A\beta$ ) пептидов, обуславливающие дегенерацию нейронов.  $\beta$ -амилоидные пептиды подвергаются *in vivo* ряду посттрансляционных модификаций, которые в том числе влияют на их склонность к образованию олигомеров и фибриллярных структур. Одной из таких модификаций является неферментативная изомеризация 7-ого аминокислотного остатка  $A\beta$   $\alpha$ -аспарагиновой кислоты. В результате меняется сродство пептида к ионам цинка, вследствие чего увеличивается его способность к олигомеризации в растворе [2]. Основной целью данной работы является количественный анализ степени изомеризации  $A\beta$ -пептидов, выделенных из тканей головного мозга мышей, методами масс-спектрометрии.

**Методика.** Эксперименты проводились на трансгенных мышах FADx5. Из ткани мозга выделяли белково-пептидную фракцию, из которой методом твердофазной экстракции получали элюат, содержащий  $\beta$ -амилоидные пептиды в «полноразмерной» форме (длиной в 38-42 аминокислотных остатка). Далее в результате ферментативного гидролиза получали более короткий фрагмент  $A\beta(1-16)$ , который имеет меньшую тенденцию к агрегации, и поэтому является более удобным объектом для анализа. Количественная оценка степени изомеризации пептидов проводилась с использованием ранее разработанной в лаборатории методики [1]. Анализ образцов осуществлялся на масс-спектрометре UltrafleXtreme (Bruker Daltonik GmbH, Бремен, Германия) MALDI-TOF/TOF с использованием метода лазерной ионизационной фрагментации (LIFT) в режиме диссоциации, индуцированной соударением (CID). Комплементарное исследование проводилось на приборе LTQ FT Ultra (Thermo Scientific, Германия), сопряженном с хроматографической системой Agilent 1100 (Agilent Technologies Inc., США). Ионизацию проводили методом электрораспыления (ESI) с использованием ионного источника Ion Max (Thermo Scientific, Германия) с металлическим распылительным капилляром.

**Результаты.** В ходе работы был проведен масс-спектрометрический анализ  $\beta$ -амилоидной фракции, полученной из тканей головного мозга трансгенных мышей. Согласно проведенной оценке, степень изомеризации аспарагиновой кислоты составляет около 10%. Результаты, полученные двумя независимыми масс-спектрометрическими методами анализа, сходятся с хорошей точностью.

### Источники и литература

- 1) Pekov et al. Evaluation of MALDI-TOF/TOF Mass Spectrometry Approach for Quantitative Determination of Aspartate Residue Isomerization in the Amyloid- $\beta$  Peptide // J Am Soc Mass Spectrom.. 2019;30:1325–9.
- 2) Tsvetkov et al. Isomerization of the Asp7 residue results in zinc-induced oligomerization of Alzheimer's disease amyloid  $\beta$  (1-16) peptide. // ChemBioChem, 2008; 9(10):1564–7