

Протеомный анализ фракций плазмы крови для поиска биомаркеров шизофрении

Научный руководитель – Бугрова Анна Евгеньевна

Фолифорова Арина Сергеевна

Выпускник (бакалавр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: arinasf@yandex.ru

Введение. Шизофрения – сложное психическое расстройство с психозами и когнитивными нарушениями, точная причина неизвестна. Диагностика основана на клинических критериях, между появлением симптомов и постановкой диагноза может пройти несколько лет. Ранняя диагностика улучшает прогноз, сокращая нелеченный психоз.

Поиск биомаркеров для раннего выявления – актуальная задача. Перспективны диагностические панели на основе плазмы крови, однако ее белковый состав имеет широкий динамический диапазон концентраций (>10 порядков). Мажорные белки (альбумин, иммуноглобулины) составляют >99% массы, а низкоконцентрированные, наиболее информативные, недоступны для прямого детектирования. Требуется фракционирование с осаждением мажорных белков.

Цель работы: проведение панорамного масс-спектрометрического анализа фракций плазмы для поиска биомаркеров шизофрении.

Материалы и методы. Собран клинический материал (плазма крови) пациентов с верифицированным диагнозом шизофрении, с аффективными расстройствами (группа сравнения) и здоровых добровольцев (n=15 в каждой группе). Из образцов приготовлены три фракции, обедненные мажорными белками. Применены методики фракционирования из работ [1, 2]: осаждение метанолом (с охлаждением и нагреванием) и хлорной кислотой. Анализ проводили методом ЖХ-МС/МС высокого разрешения на масс-спектрометре TIMS-TOF (Bruker).

Результаты. Электрофореграмма фракций показала обеднение (depletion) мажорными белками, особенно альбумином, и увеличение доли низкоконцентрированных белков. Наилучшее удаление альбумина достигнуто при осаждении хлорной кислотой и метанолом с нагреванием, однако хлорная фракция более обогащена низкомолекулярными белками.

Нецелевой МС-анализ идентифицировал >900 белков: 322 в нативной плазме, ~2/3 – благодаря фракционированию. Метанол с охлаждением дал максимум идентификаций (590). Хлорная кислота лидировала по уникальным идентификациям (152), метанольные подходы также дали много уникальных (125 и 99). Методы взаимодополняемы, позволили идентифицировать >95% всех белков (лишь 45 уникальны для нативной плазмы).

Протеомный анализ выявил различия в протеомных профилях. Биоинформационный анализ показал связь потенциальных маркеров с каскадами свертывания, системой комплемента, опсонизацией, мышечным сокращением.

Выводы. Сочетание методов осаждения метанолом и хлорной кислотой расширило протеомное покрытие до 925 белков. Выявлены белки-кандидаты в маркеры шизофрении, связанные с иммуновоспалительными и гемостатическими процессами. Данные обосновывают выбор мишеней для верификации и разработки диагностической панели.

Работа поддержана грантом РНФ № 25-74-20034.

Источники и литература

- 1) Viode, A. [et al.] A simple, time- and cost-effective, high-throughput depletion strategy for deep plasma proteomics. // *Sci. Adv.* 2023. V. 9(13): eadf9717
- 2) Rice S. J., Belani C. P. Characterization of effective, simple, and low-cost precipitation methods for depleting abundant plasma proteins to enhance the depth and breadth of plasma proteomics. // *Proteomics.* 2024. V. 24(15): 2400071

Иллюстрации

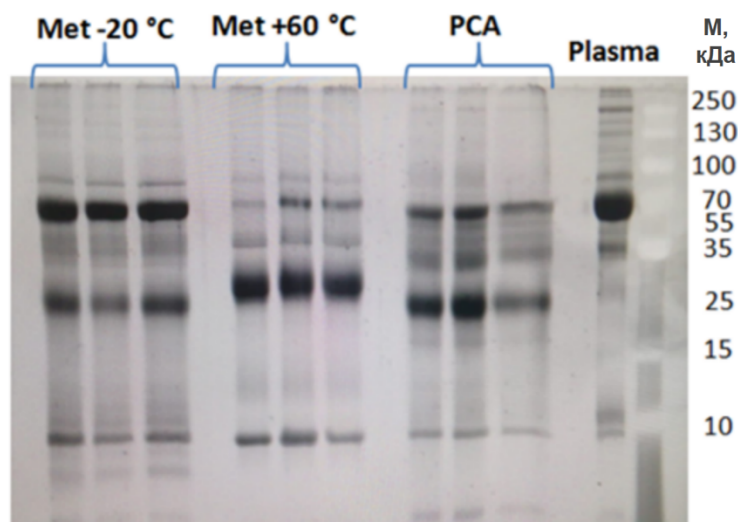


Рис. : Анализ фракций методом белкового электрофореза (SDS-PAGE). Для получения фракций были использованы 3 подхода для удаления мажорных белков: осаждение 60% метанолом с инкубацией при -20 °С, осаждение 60% метанолом с инкубацией при +60 °С, осаждение 70% HClO₄.

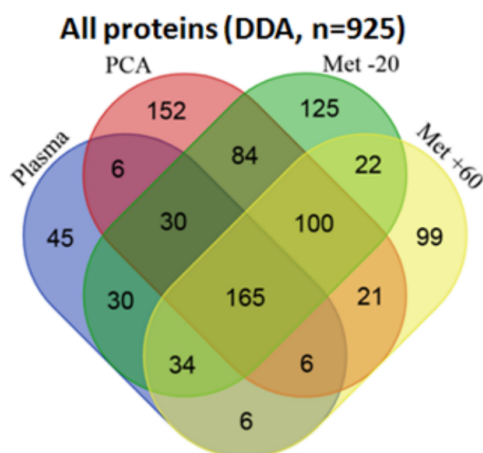


Рис. : Диаграмма Венна по результатам МС идентификаций в режиме DDA для всех идентифицированных белков.