Биомедицинская химия, 2015 том 61, вып. 2, с. 272-278.

БИОИНФОРМАТИКА, ПРОТЕОМИКА

УДК 543.51
©Коллектив авторов

ОЦЕНКА ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЙ ПАНЕЛИ ПЕПТИДОВ PLASMADEEPDIVE™ В КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ

Ю.В. Мирошниченко[1]*, Н.А. Петушкова[1], Н.Е. Москалева[1], Н.Б. Теряева[2], В.Г. Згода[1], Е.В. Ильгисонис[1], А.Ю. Беляев[2]

[1]Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, 119121 Москва, ул. Погодинская, 10; эл. почта: yuliana.miroshnichenko@gmail.com
[2]Научно-исследовательский институт нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко, Москва

Определены концентрации 46 белков плазмы крови человека методом мониторинга диссоциативных переходов с использованием масс-спектрометрической панели (МС-панель) PlasmaDeepDive™ (“Biognosys AG”, Швейцария) для количественного анализа пептидов. 18 из них, вошедшие в группу белков с более высокими концентрациям, также идентифицированы методом панорамной хромато-масс-спектрометрии. На основании данных литературы сделан вывод о возможности использования МС-панели PlasmaDeepDive™ в исследованиях, направленных на определение в плазме крови человека и оценку клинического значения потенциальных маркерных белков заболеваний нервной системы различного генеза.

Ключевые слова: количественная протеомика, маркерные белки, масс-спектрометрия, панель белков, патология центральной нервной системы, пептид.

DOI: 10.18097/PBMC20156102272

ВВЕДЕНИЕ

Оценка прогнозов развития любого заболевания и назначение адекватной лекарственной терапии основываются не только на определении выраженности патологического процесса, но и на диагностике дисфункций ключевых систем организма. О гипер- или гипофункции этих систем можно судить по качественному и количественному изменению маркерных белков, ассоциированных с теми или иными патофизиологическими процессами [1].

В клинических лабораториях определение маркерных белков зачастую выполняется с использованием антител и других аффинных реагентов, однако антитела имеются не для всех белков или существенно различаются по качеству [1-3]. Это влечёт за собой возможные погрешности, такие, как влияние состава среды на сродство и стабильность комплексов “антиген-антитело”, неспецифическое связывание и многое другое. Также следует учитывать, что разные производители выпускают антитела к разным эпитопам, в итоге результаты определения существенно зависят от того, какие наборы используются в данный момент. Подобные методы разработаны для незначительного числа белков крови, а возможности определения нескольких белков в одной биопробе реализованы лишь для отдельных, узко специфических диагностических панелей [4]. Поэтому, при проведении протеомного анализа сложных белковых смесей для идентификации белков и их пептидов предпочтительным является применение высокоточных методов масс-спектрометрии [1-3].

В протеомике для идентификации максимально возможного числа белков в биопробе используется метод панорамной жидкостной хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС); для количественной оценки белков – метод мониторинга диссоциативных переходов [5, 6]. В первом случае, в одной биопробе удаётся идентифицировать в среднем около 270 белков за один эксперимент [7], а анализ полученных масс-спектров позволяет оценить относительное содержание белков и сравнить образцы биоматериала при различных состояниях: до введения лекарственного вещества и после введения лекарственного вещества, в норме и при патологии и т.д. [8]. Во втором случае анализ полученных масс-спектров позволяет в одной биопробе определить концентрации до 100 белков за один эксперимент [3, 5, 9, 10]. Однако, масс-спектрометрические методы, направленные

* - адресат для переписки

на определение относительного содержания белков, являются менее чувствительными по сравнению с методами количественной протеомики, в результате чего не всегда идентифицируются белки, содержащиеся в организме в малых концентрациях [2, 6], а интерпретация полученных данных, в свою очередь, зависит от условий постановки отдельно взятого эксперимента [2, 11].

В настоящее время выявлены основные маркерные белки [12], но определение единичных маркерных белков не позволяет в полной мере оценить все риски, связанные с развитием и прогрессированием заболевания, и, как следствие, назначить соответствующую лекарственную терапию. Для этого необходимо иметь представление о комплексах маркерных белков патофизиологических процессов, вовлечённых в развитие заболеваний [1, 2, 9, 10]. Основным, доступным для клинических лабораторий источником маркерных белков, в том числе ранних маркеров, служит плазма крови, которая представляет собой сложную смесь едва ли не всех белков, содержащихся в организме человека [1-3].

Главная проблема исследований, направленных на оценку клинического значения потенциальных маркерных белков, связана с трудностями, возникающими при количественных измерениях из-за отсутствия стандартизованных методик измерения [13] и данных о нормальных количественных диапазонах большинства плазменных белков, за исключением белков, используемых в клинической диагностике [1, 2, 6, 14, 15]. Наиболее оптимальным в данной ситуации может стать применение так называемых масс-спектрометрических панелей, разработанных биомедицинскими компаниями для измерения абсолютных количеств широкого спектра потенциальных маркерных белков (порядка 100 белков на панель) различных заболеваний в нескольких биопробах за одно измерение [2, 6, 9, 10, 16].

В данной работе мы провели масс-спектрометрический анализ белков плазмы крови человека методом мониторинга диссоциативных переходов и методом панорамной хромато-масс-спектрометрии. Измерения методом мониторинга диссоциативных переходов выполняли с использованием масс-спектрометрической панели (МС-панель) PlasmaDeepDive™ (“Biognosys AG”, Швейцария) для количественного анализа пептидов. Панель включает 100 пептидов: 25 контрольных пептидов и 75 пептидов – потенциальных маркеров различных заболеваний. Из 25 контрольных пептидов 16 пептидов соответствуют обеднённым белкам плазмы крови человека; они необходимы для контроля качества очистки анализируемых образцов от высоко концентрационных (мажорных) белков. Другие 9 пептидов обеспечивают высокую воспроизводимость результатов. Таким образом, в основе МС-панели PlasmaDeepDive™ заложен принцип определения абсолютных количеств белка по одному уникальному пептиду за одно измерение. Полученные нами результаты показывают, что МС-панель PlasmaDeepDive™ может быть использована в исследованиях, направленных на оценку клинического значения потенциальных маркерных белков (терапевтических агентов) заболеваний, а метод мониторинга диссоциативных переходов позволяет провести количественное определение белков, присутствующих в плазме крови человека в низких концентрациях.

МЕТОДИКА

Материалы, реагенты и ферменты

Материалы, реагенты и эталонная смесь 100 изотопно-меченых пептидов, входящие в состав МС-панели PlasmaDeepDive™ (“Biognosys AG”); ацетонитрил, TFA (“Merck”, Германия); муравьиная кислота (“Acros Organics”, США); бычий сывороточный альбумин, 2,2-бицинхониновая кислота, ЭДТА (“Sigma-Aldrich”, США); трипсин модифицированный, для секвенирования (“Promega”, США).

Образцы крови

Образцы здоровой плазмы крови человека (n=2) предоставлены лабораторией клинической биохимии НИИ нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко. Получено добровольное информированное согласие пациентов на участие в исследовании и использование их биопроб. Данная работа выполнена в рамках отработки эксперимента по проведению масс-спектрометрического анализа с применением дорогостоящей МС-панели PlasmaDeepDive™, поэтому измерения проводились на биоматериале, полученном от двух человек.

Материалом исследований служила плазма свежей венозной крови, полученной утром натощак. Кровь собирали в предварительно охлажденную пробирку с ЭДТА, быстро перемешивали, центрифугировали при 4°С в течение 10 мин при 1500 g, плазму немедленно отбирали и замораживали. Образцы плазмы хранили в криопробирках при -80°С до использования.

Пробоподготовка биоматериала

Обеднение плазмы крови выполняли с использованием набора ProteoPrep® (Albumin & IgG Depletion Kit, “Sigma”), согласно протоколу производителя. Концентрацию общего белка в пробах измеряли с использованием бицинхониновой кислоты [17]. Дальнейшую пробоподготовку проводили по протоколу PlasmaDeepDive™ (версия 1.02). После добавления в пробы пептидов МС-панели PlasmaDeepDive™ полученную смесь анализировали методом мониторинга диссоциативных переходов и методом ЖХ-МС/МС.

Масс-спектрометрическая регистрация пептидов

Разделение пептидов проводили на хроматографической системе Ultimate 3000 nano-flow HPLC (“Dionex”, США), соединённой с тройным

квадрупольным масс-спектрометром TSQ Vantage (“Thermo Scientific”, США) или с масс-спектрометром Orbitrap Q Exactive (“Thermo Scientific”). Пептиды разделяли на аналитической колонке Zorbax 300SB-C18, диаметр частиц 3,5 мкм, 150 мм×75 мкм (“Agilent Technologies”, США), в линейном градиенте от 95% буфера А (вода, 0,1% муравьиная кислота) и 5% буфера В (вода, 0,1% муравьиная кислота, 80% ацетонитрил) до 60% буфера В течение 95 мин при скорости потока 0,3 мкл/мин.

Пептиды анализировали методом мониторинга диссоциативных переходов на тройном квадрупольном масс-спектрометрометре TSQ Vantage с источником ионизации Easy Spray (по три технических повтора для каждой пробы) согласно протоколу PlasmaDeepDive™.

Пептиды анализировали методом ЖХ-МС/МС на масс-спектрометрометре Orbitrap Q Exactive (по три технических повтора для каждой пробы) с высокоэнергетической фрагментацией, индуцированной столкновением (HCD – Higher-energy collisional dissociation), нормализованная энергия соударений составила 35 эВ. Однозарядные ионы и ионы с неопределенным состоянием заряда исключали при МС/МС-сканировании.

Анализ масс-спектрометрических данных

МС/МС-спектры в формате “raw”, полученные методом мониторинга диссоциативных переходов, обрабатывали в программе SpectroDive™ (версия 6.0; “Biognosys AG”), согласно протоколу PlasmaDeepDive™. Для извлечения хроматограмм переходов изотопно-меченных и нативных пептидов использовали программу SkyLine (версия 2.6; “MacCoss Lab”, США).

МС/МС-спектры в формате “raw”, полученные методом ЖХ-МС/МС, обрабатывали в программе Progenesis LC-MS (“Nonlinear Dynamics Ltd.”, Великобритания). При поиске белков в программе Mascot устанавливали следующие параметры: база данных – Swiss-Prot (версия 2012_11) для вида *Homo Sapiens*; расщепляющий фермент – трипсин; точность совпадения теоретической и экспериментальной массы пептида – 15 м.д.; точность совпадения теоретической и экспериментальной масс фрагментарных ионов – 0,01 Да; количество возможных пропущенных участков расщепления трипсином – 1; фиксированная модификация – карбамидометилирование цистеина, вариабельная модификация – окисленный метионин. Пептиды, идентифицированные в Mascot с индексом достоверности (score) меньше 13, считали недостоверными.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате выполненного с использованием МС-панели PlasmaDeepDive™ количественного анализа исследуемых образцов плазмы крови определены концентрации 46 белков (см. таблицу), половина из которых (22) относятся к маркерной группе. Методом ЖХ-МС/МС идентифицировано 66 белков, из них только 18 соответствуют белкам МС-панели PlasmaDeepDive™, при этом к маркерной группе относится только один (белок зоны беременности; P20742).

Как следует из таблицы, почти все белки, детектированные одновременно двумя масс-спектрометрическими методами, относятся к контрольной группе белков МС-панели PlasmaDeepDive™, концентрации которых попадают в диапазон (19,86±8,61)–(1050,33±552,39) фмоль/мкл. На рисунке приведены хроматограммы изотопно-меченного и нативного пептида TPLTATLSK, соответствующие белку (С регион альфа-1 цепи иммуноглобулина; P01876), детектированному методом мониторинга диссоциативных переходов с наибольшей концентрацией, из программ SpectroDive™ и SkyLine. Концентрации же детектированных белков из маркерной группы находятся в диапазоне (0,39±0,33)–(18,28±11,56) фмоль/мкл. При этом хорошо видно, что с уменьшением концентраций белков в исследуемых образцах плазмы крови резко падает число их идентификаций методом ЖХ-МС/МС. Т акже стоит отметить, что в 42% случаев пептиды, по которым проводилась идентификация белков методом ЖХ-МС/МС, соответствовали пептидам МС-панели PlasmaDeepDive™.

Таблица наглядно демонстрирует возможности использования методов мониторинга диссоциативных переходов и ЖХ-МС/МС при определении белков, содержащихся в плазме крови человека в малых концентрациях. Представленные в ней результаты можно объяснить более высоким динамическим диапазоном метода мониторинга диссоциативных переходов, чем у метода ЖХ-МС/МС. Характерное распределение белков из маркерной и контрольной групп по двум концентрационным диапазонам обусловлено, вероятно, тем, что маркерную группу, в основном составляют белки, присутствующие в здоровой плазме в низких концентрациях. Если рассматривать представленные в таблице белки с точки зрения их функциональности, то, исходя из имеющихся в литературе данных, можно сказать, что многие из них в той или иной степени могут быть вовлечены в патогенез заболеваний нервной системы различного генеза [18-24].

Таким образом, можно сделать вывод о перспективности применения метода мониторинга диссоциативных переходов в клинических исследованиях, направленных на выявление в крови пациентов потенциальных маркерных белков и терапевтических мишеней различных заболеваний и оценку их клинического значения, в том числе с участием пациентов, страдающих патологиями нервной системы различного генеза.

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013-2020 годы.

Таблица. Результаты количественного определения белков плазмы крови человека с использованием МС-панели PlasmaDeepDive™ в сравнении с результатами идентификации белков методом ЖХ-МС/МС.

№ п/п	Наименование белка	Идентификатор UniProt	Группа пептидов (белков) МС-панели PlasmaDeepDive™	Наличие пептидов МС-панели PlasmaDeepDive™ для количественной оценки белков в списке пептидов, идентифицированных методом ЖХ-МС/МС		Концентрация белков в исследуемых образцах (фмоль/мкл)
				Пептиды МС-панели PlasmaDeepDive™ для количественной оценки белков	Идентификационный пептид ЖХ-МС/МС*	
1.	С регион альфа-1 цепи иммуноглобулина	P01876	контрольная	TPLTATLSK	+	1050,33±552,39
2.	Альфа-1-антитрипсин	P01009	контрольная	SVLGQLGITK	+	886,91±350,09
3.	Альфа-2-макроглобулин	P01023	контрольная	AIGYLNTGYQR	–/+	405,16±216,59
4.	Гемопексин	P02790	контрольная	GGYTLVSGYPK	+	280,55±107,71
5.	Серотрансферрин	P02787	контрольная	DGAGDVAFVK	н/о	232,27±96,65
6.	Витамин D-связывающий белок	P02774	контрольная	HLSLLTTLSNR	н/о	147,29±124,67
7.	Альфа-1B гликопротеин	P04217	контрольная	LLELTGPK	+	142,44±85,16
8.	Тяжелая H2-цепь интер-альфа-ингибитора трипсина	P19823	контрольная	FYNQVSTPLLR	+	119,47±63,45
9.	Гаптоглобин	P00738	контрольная	TEGDGVYTLNNEK	+	117,13±30,99
10.	Кининоген 1	P01042	контрольная	YFIDFVAR	–	88,44±37,74
11.	Аполипопротеин A-I	P02647	контрольная	DYVSQFEGSALGK	–/+	85,81±31,05
12.	Гамма-цепь фибриногена	P02679	контрольная	IHLISTQSAIPYALR	+	64,9±13,19
13.	Альфа-цепь фибриногена	P02671	контрольная	GSESGIFTNTK	+	49,2±19,36
14.	Аполипопротеин A-II	P02652	контрольная	EQLTPLIK	–/+	28,69±13,72
15.	Тяжелая H4-цепь интер-альфа-ингибитора трипсина	Q14624	контрольная	ILDDLSPR	–	19,86±8,61
16.	Гликопротеин 5	P40197	маркерная	YLGVTLSPR	н/о	18,28±11,56
17.	Комплемент C3	P01024	контрольная	GYTQQLAFR	–	17,57±6,44
18.	Комплемент C4-B	P0C0L5	маркерная	ASSFLGEK	н/о	14,97±10,22
19.	Транстиретин	P02766	контрольная	AADDTWEPFASGK	н/о	14,62±5,93
20.	Нейротрофический фактор мозга	P23560	маркерная	QYFYETK	н/о	11,32±0,5
21.	Люмикан	P51884	маркерная	FNALQYLR	н/о	11,22±5,21
22.	С регион гамма-1 цепи иммуноглобулина	P01857	контрольная	GPSVFPLAPSSK	н/о	10,75±5,09
23.	C1 ингибитор протеазы плазмы	P05155	контрольная	LLDSLPSDTR	н/о	10,32±5,06
24.	С регион гамма-2 цепи иммуноглобулина	P01859	контрольная	GLPAPIEK	н/о	9,59±5,33
25.	Сывороточный альбумин	P02768	контрольная	FQNALLVR	–	9,28±3,53

Таблица. Продолжение.

№ п/п	Наименование белка	Идентификатор UniProt	Группа пептидов (белков) МС-панели PlasmaDeepDive™	Наличие пептидов МС-панели PlasmaDeepDive™ для количественной оценки белков в списке пептидов, идентифицированных методом ЖХ-МС/МС		Концентрация белков в исследуемых образцах (фмоль/мкл)
				Пептиды МС-панели PlasmaDeepDive™ для количественной оценки белков	Идентификационный пептид ЖХ-МС/МС*	
26.	Бета-цепь фибриногена	P02675	контрольная	DNENVVNEYSSELEK	–/+	6,94±0,96
27.	Фосфатидилинозитол-гликан-специфичная фосфолипаза D	P80108	маркерная	FGSSLITVR	н/о	6,19±2,79
28.	Белок-ингибитор инсулиноподобного фактора роста 3	P17936	маркерная	FLNVLSPR	н/о	4,47±1,84
29.	Глиальный фибриллярный кислый белок	P14136	маркерная	HLQEYQDLLNVK	н/о	3,8
30.	Инсулиноподобный фактор роста 2	P01344	маркерная	GIVEECCFR	н/о	2,95±2,08
31.	Белок зоны беременности	P20742	маркерная	AVGYLITGYQR	–/+	2,94±0,21
32.	Гомолог фосфатазы и тензина	P60484	маркерная	GVTIPSQR	н/о	2,91
33.	Цистатин С	P01034	маркерная	ALDFAVGEYNK	н/о	2,86
34.	Тяжёлая H3-цепь интер-альфа-ингибитора трипсина	Q06033	маркерная	DYIFGNYIER	н/о	2,61
35.	Основной белок тромбоцитов	P02775	маркерная	NIQSLEVIGK	н/о	2,47±2,07
36.	Мультимерин 1	Q13201	маркерная	FLQSFAR	н/о	2,07
37.	Кадгерин 5	P33151	маркерная	YTFVVPEDTR	н/о	1,98±0,7
38.	С регион мю-цепи иммуноглобулина	P01871	контрольная	YAATSQVLLPSK	–/+	1,81±0,66
39.	Витронектин	P04004	контрольная	FEDGVLDPDYPR	н/о	1,46
40.	2,3-бисфосфоглицерат 3-фосфатаза	Q9UNW1	маркерная	VLEYLNDLK	н/о	1,37
41.	Цитоплазматическая NADP-изоцитратдегидрогеназа	O75874	маркерная	ATDFVVPGPGK	н/о	0,89
42.	Фактор фон Виллебранда	P04275	маркерная	AVSPLPYLR	н/о	0,79±0,7
43.	Фосфопротеин p53	P04637	маркерная	TYQGSYGFR	н/о	0,78
44.	Белковый комплекс инсулиноподобного фактора роста и кислотно-лабильной субъединицы	P35858	маркерная	ANVFVQLPR	н/о	0,64
45.	ди-N-ацетилхитобиаза	Q01459	маркерная	ATYIQNYR	н/о	0,62±0,32
46.	Нейрональная молекула клеточной адгезии 1	P13591	маркерная	GLGEISAASEFK	н/о	0,39±0,33

Примечание: * (+) - присутствует в списке пептидов, по которым проводилась идентификация белков методом ЖХ-МС/МС; (-/+) - присутствует в списке пептидов, идентифицированных методом ЖХ-МС/МС, однако результат считается недостоверным (score<13); (-) - отсутствует в списке пептидов, идентифицированных методом ЖХ-МС/МС (идентификация белка проводилась по другим пептидам); (н/о) - белок методом ЖХ-МС/МС не определён.

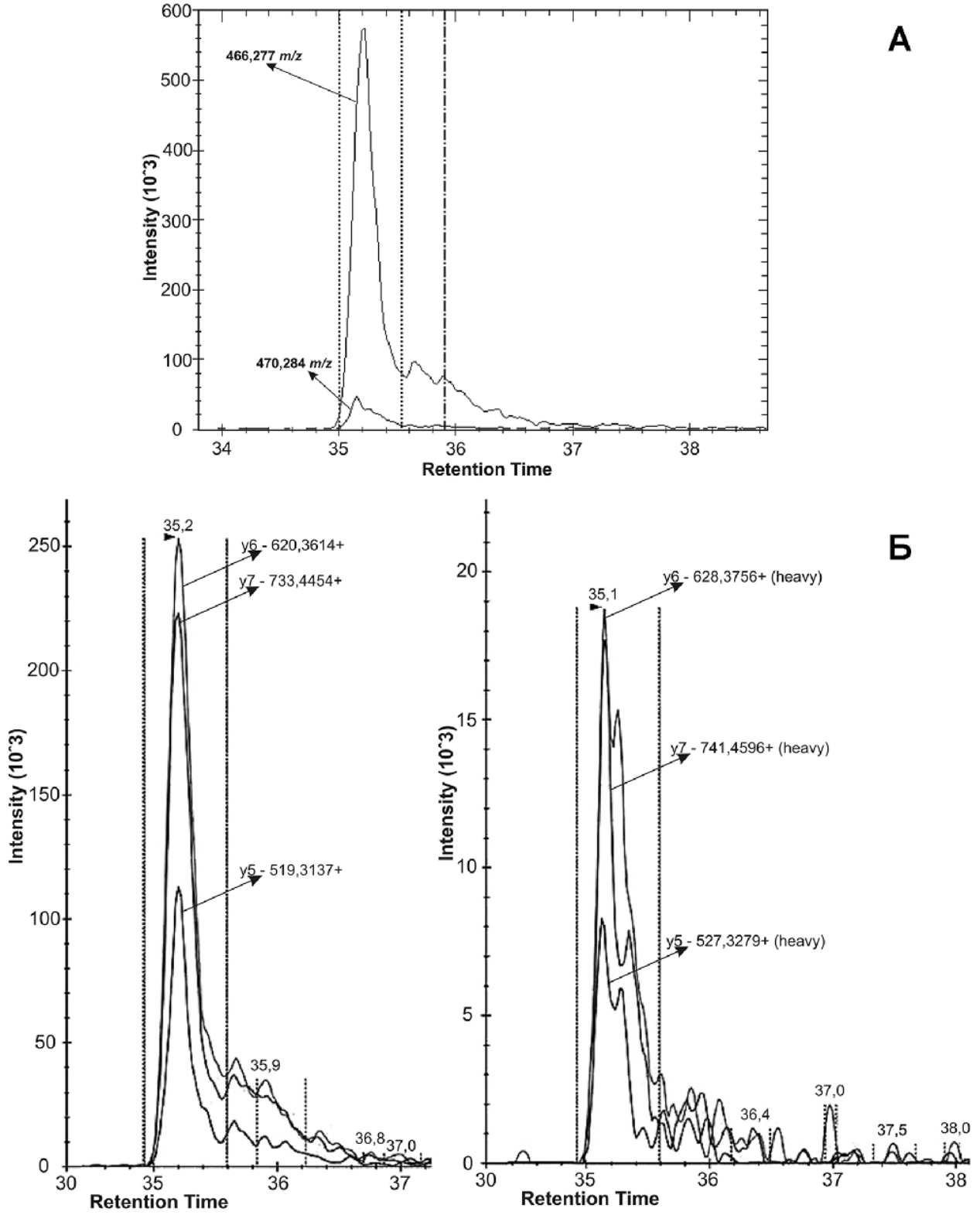

Рисунок. Масс-спектрометрическая детекция в плазме крови человека пептида TPLTATLSK при концентрации белка (C регион альфа-1 цепи иммуноглобулина; P01876) 1354,114 фмоль/мкл. А) Хроматограмма нативного и изотопно-меченного пептида TPLTATLSK из программы SpectroDive™. Б) Хроматограммы переходов нативного и изотопно-меченного (heavy) пептида TPLTATLSK из программы SkyLine.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Hüttenhain R., Malmström J., Picotti P., Aebersold R.* (2009) Curr. Opin. Chem. Biol., **13**, 518-525.
2. *Schiess R., Wollscheid B., Aebersold R.* (2009) Mol. Oncol., **3**, 33-44.
3. *Percy A.J., Chambers A.G., Parker C.E., Borchers C.H.* (2013) Methods Mol. Biol., **1000**, 167-189.
4. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 5th Edition (2013) (Burtis C.A., Ashwood E.R., Bruns D.E., eds.) Elsevier Saunders, St. Louis, MO, p. 2256.
5. *Doerr A.* (2013) Nat. Methods, **10**, 23.
6. *Archakov A., Zgoda V., Kopylov A., Naryzhny S., Chernobrovkin A., Ponomarenko E., Lisitsa A.* (2012) Expert Rev. Proteomics, **9**, 667-676.
7. *Jones K.A., Kim P.D., Patel B.B., Kelsen S.G., Braverman A., Swinton D.J., Gafken P.R., Jones L.A., Lane W.S., Neveu J.M. et al.* (2013) J. Proteome Res., **12**, 4351-4365.
8. *Родченкова М., Новикова С.* (2013) Аналитика, **3**, 40-46.
9. *Kuzyk M.A., Smith D., Yang J., Cross T.J., Jackson A.M., Hardie D.B., Anderson N.L., Borchers C.H.* (2009) Mol. Cell. Proteomics, **8**, 1860-1877.
10. *Domanski D., Percy A.J., Yang J., Chambers A.G., Hill J.S., Freue G.V., Borchers C.H.* (2012) Proteomics, **12**, 1222-1243.
11. *Medvedev A., Kopylov A., Buneeva O., Zgoda V., Archakov A.* (2012) Proteomics, **12**, 621-637.
12. *Anderson N.L.* (2010) Clin. Chem., **56**, 177-185.
13. *Hüttenhain R., Surinova S., Ossola R., Sun Z., Campbell D., Cerciello F., Schiess R., Bausch-Fluck D., Rosenberger G., Chen J., et al.* (2013) Mol. Cell. Proteomics, **12**, 1005-1016.
14. *Liu Y., Buil A., Collins B.C., Gillet L.C., Blum L.C., Cheng L.Y., Vitek O., Mouritsen J., Lachance G., Spector T.D., Dermitzakis E.T., Aebersold R.* (2015) Mol. Syst. Biol., **11**, 786.
15. *Lisitsa A., Moshkovskii S., Chernobrovkin A., Ponomarenko E., Archakov A.* (2014) Expert Rev. Proteomics, **11**, 121-129.
16. *Picotti P., Bodenmiller B., Aebersold R.* (2013) Nat. Methods, **10**, 24-27.
17. *Smith P.K., Krohn R.I., Hermanson G.T., Mallia A.K., Gartner F.H., Provenzano M.D., Fujimoto E.K., Goeke N.M., Olson B.J., Klenk D.C.* (1985) Anal. Biochem., **150**, 76-85.
18. *Utz J.R., Crutcher T., Schneider J., Sorgen P., Whitley C.B.* (2014) Mol. Genet. Metab., **114**, 274-280.
19. *Yang H., Lyutvinskiy Y., Herukka S.K., Soininen H., Rutishauser D., Zubarev R.A.* (2014) J. Alzheimer's Dis., **40**, 659-666.
20. *Singh M., Su C.* (2013) Neuroscience, **239**, 84-91.
21. *de Bont J.M., van Doorn J., Reddingius R.E., Graat G.H., Passier M.M., den Boer M.L., Pieters R.* (2008) Int. J. Cancer, **123**, 594-600.
22. *Middeldorp J., Hol E.M.* (2011) Prog. Neurobiol., **93**, 421-443.
23. *Wyatt L.A., Filbin M.T., Keirstead H.S.* (2014) J. Comp. Neurol., **522**, 2741-2755.
24. *Ijsselstijn L., Dekker L.J., Stingl C., van der Weiden M.M., Hofman A., Kros J.M., Koudstaal P.J., Sillevis Smitt P.A., Ikram M.A., Breteler M.M., Luider T.M.* (2011) J. Proteome Res., **10**, 4902-4910.

Поступила: 27. 01. 2015.

THE POSSIBILITY OF USING PLASMADEEPDIVE™ MRM PANEL IN CLINICAL DIAGNOSTICS

Iu.V. Miroshnichenko[1], N.A. Petushkova[1], N.E. Moskaleva[1], N.B. Teryaeva[2], V.G. Zgoda[1], E.V. Ilgisonis[1], A.Yu. Belyaev[2]

[1]Institute of Biomedical Chemistry,
10 Pogodinskaya str., Moscow, 119121 Russia; e-mail: yuliana.miroshnichenko@gmail.com
[2]Burdenko Institute of Neurosurgery, Moscow, Russia

Concentrations of 46 proteins have been determined in human blood plasma using PlasmaDeepDive™ MRM Panel ("Biognosys AG", Switzerland). 18 of them were included into the group of proteins with higher concentrations, also identified by the shotgun proteomic analysis. Based on literature data it is concluded that the PlasmaDeepDive™ MRM Panel is applicable for studies of human plasma samples for potential biomarkers of various nervous system disorders.

Key words: biomarkers, mass spectrometry, pathology of the central nervous system, peptide, protein panel, quantitative proteomics.