

**Прогнозирование и выбор пригодных для SRM-анализа протеотипических пептидов вариантов альтернативного сплайсинга и аминокислотного полиморфизма белков хромосомы 18 по результатам высокопроизводительного секвенирования образцов ткани печени и клеточной линии HepG2**

**Киселева Ольга Игоревна**

*Аспирант*

НИИ биомедицинской химии имени В.Н.Ореховича, Отдел биоинформатики,  
Лаборатория биоинформационных технологий, Москва, Россия

*E-mail: olly.kiseleva@gmail.com*

На сегодняшний день высокопроизводительные технологии секвенирования позволяют генерировать огромные массивы информации о генетических вариациях. Однако именно интерпретация этих данных представляет собой основную сложность для эффективного использования полученной RNASeq-информации. Идентификация вариаций (например, единичных аминокислотных замен и продуктов альтернативного сплайсинга), ассоциированных с различными болезнями, является гораздо более сложной задачей.

До настоящего времени одним из наиболее распространённых методов изучения единичных аминокислотных замен являлась shotgun-масс-спектрометрия. Разработанный недавно масс-спектрометрический метод мониторинга множественных реакций (SRM, selected reaction monitoring) представляет собой перспективную альтернативу для точного количественного анализа белков. Следующим за секвенированием шагом является соотнесение масс-спектров пептидов белков с соответствующими онко-ассоциированными нуклеотидными мутациями, сведения о которых получены с помощью технологий секвенирования нового поколения.

Развитие метода SRM для детектирования продуктов альтернативного сплайсинга или белков с единичными аминокислотными заменами требует серии масс-спектрометрических экспериментов, сопоставленных с результатами секвенирования нормальной и опухолевой ткани.

Биоинформационный протокол нашего исследования включал следующие этапы:

- 1) Секвенирование геномов нормальной ткани печени и клеточной линии HepG2 на платформах SOLiD и Illumina
- 2) Обработка прочтений и их картирование на референсный геном
- 3) Отбор вариантов нуклеотидных последовательностей, отличающихся от референсного генома
- 4) Поиск и аннотация однонуклеотидных полиморфизмов
- 5) Поиск новых сплайс-форм транскриптов и белков
- 6) Идентификация уникальных пептидов, пригодных для масс-спектрометрического анализа

В силу строгих ограничений по уникальности и длине исследуемых пептидов удалось достигнуть десятикратного уменьшения экспериментального пула: для белков исследуемой хромосомы 18 обнаружен 101 вариант аминокислотного полиморфизма, для 49 из них подобраны протеотипические пептиды. Было выявлено 25 новых, не аннотированных ранее сплайс-вариантов белков хромосомы 18 (подавляющее большинство которых представлено в раковой клеточной линии). Для 24 из них подобраны протеотипические

пептиды.

В рамках дальнейшего исследования планируется провести MS/MS-анализ вариантных протеотипических пептидов и соответствующих канонических форм с изотопными метками и разработать протокол SRM-анализа в биологических образцах, который позволит прояснить роль единичного аминокислотного полиморфизма и альтернативного сплайсинга в процессе канцерогенеза.

#### **Слова благодарности**

Выражается благодарность к.б.н. Краснову Г.С. и к.б.н. Кудрявцевой А.В. (ФГБУ «Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН», 119334, Москва, Россия)