

Молекулярно-масовий розподіл пептидів у екстрактах кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри поросят

І.Г. Беспалова, Л.А. Рогоза

Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків

Molecular-Mass Distribution of Peptides in the Extracts of Cryopreserved Fragments from Pig Spleen and Piglet Skin

I.G. Bespalova, L.A. Rohoza

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

На даний час показана висока біологічна активність екстрактів кріоконсервованих фрагментів органів свиней та поросят при експериментальних патологічних станах, яка пов'язується з наявністю в них регуляторних пептидів. Однак для визначення можливого механізму дії таких пептидів необхідно встановити їхню будову. Одним із таких методів може бути метод часопролітної матрично-активованої лазерної десорбції/іонізації (MALDI-ToF).

Мета роботи – отримати дані з молекулярно-масового розподілу пептидів, які входять до складу екстрактів кріоконсервованих фрагментів селезінки свиней та шкіри новонароджених поросят, і провести аналіз їхніх мас-спектрів.

Екстракти одержували з кріоконсервованих у присутності ПЕО-1500 фрагментів селезінки свиней (ЕСС) та шкіри поросят (ЕШП), інкубуючи їх у фізіологічному розчині 60 хв за кімнатної температури. Для видалення термолабільних протеїнів супернатант прогрівали на водяній бані 15 хв і очищували, пропускаючи через фільтрувальний папір. Для вивчення пептидного складу досліджуваних екстрактів використовували метод MALDI-ToF. Співставлення отриманих даних проводили шляхом порівняння найінтенсивніших зареєстрованих піків на мас-спектрах, що можуть відповідати окремим пептидним молекулам, із показниками, які містяться в базі даних «Protein Knowledgebase» (UniProtKB).

У ЕСС та ЕШП реєструються спільні для цих екстрактів два піки з m/z (відношення маси іона до заряду) 918 та 3390, які можуть бути співставлені з putative uncharacterized protein (FLJ11457) та TGF-beta receptor type I відповідно. Крім того, були співставлені пептиди Myocyte enhancer factor 2D (зареєстрована m/z 4966), який відіграє роль у контролі клітинного росту, виживання та апоптозу, Cathepsin B (зареєстрована m/z 3720) відноситься до білків-протеаз, та ін. Також у ЕСС реєструються пептиди з m/z 1100; 4539; 4751; 9763; 10885; 11989, а в ЕШП – 2621; 1101 та 1143. Пептиди з такими молекулярними масами відсутні у використаній нами базі даних. У ЕШП зареєстровано піки з m/z 6780 та 7353, які можна порівняти з молекулярними масами пептидів, коди яких є в базі даних – K7GR95 і F1SK27, але їх структура та функції не встановлені.

Наведені дані з наявності відповідних пептидів у екстрактах та їхньої біологічної активності можуть знайти використання при з'ясуванні механізму біологічної дії.

It is currently shown that the extracts from cryopreserved fragments of pig and piglet organ possess a high biological activity in experimental pathological conditions which is believed to be related with the presence of regulatory peptides. However, it is necessary to determine the structure of these peptides to reveal a possible mechanism of their action. One of these methods could be time-of-flight matrix-assisted laser desorption/ionization (MALDI-ToF).

The research aim was to obtain the data about the molecular mass distribution of peptides in the extracts of cryopreserved fragments of pig spleen and newborn piglet skin, and to analyze their mass spectra.

The extracts were obtained from pig spleen fragments (PSE) and piglet skin fragments (PISE) cryopreserved in the presence of PEO-1500, and incubated post thaw for 1 hr in the physiological solution at room temperature. Supernatant was warmed in water bath for 15 min and purified by passing through a filter paper to remove thermolabile proteins. To study a peptide composition of the investigated extracts, the method of MALDI-ToF was used. The obtained data were analysed by comparing the most intense mass spectra peaks, which may correspond to single peptide molecules, and the data of Protein Knowledgebase (UniProtKB).

In PSE and PISE we recorded two peaks common to both extracts with 918 and 3.390 m/z (ion/charge ratio) which could correspond to putative uncharacterized protein (FLJ11457) and TGF-beta receptor type I respectively. In addition, there were matched the peptides Myocyte enhancer factor 2D (registered m/z is 4.966) playing a role in the control of cell growth, survival and apoptosis, Cathepsin B (recorded m/z is 3.720) referred to the protease proteins *etc.* In addition, we found the PSE the peptides with m/z 1100; 4539; 4751; 9763; 10885; 11989, and in the PISEs – 2621; 1101 and 1143. Peptides with such molecular masses were absent in the used database. In the NPSE we recorded the peaks with m/z 6.780 and 7.353, that are similar to the molecular weight of peptides, the codes of which were present in the database, K7GR95 and F1SK27; but their structure and functions have not been established yet.

The presented data about presence of relevant peptides in the extracts and their biological activity may find use when ascertaining the mechanism of their biological effect.

