

## **ОПРЕДЕЛЕНИЕ ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ ВЭЖХ-МС**

Хорионический гонадотропин человека (ХГЧ) относится к классу гонадотропных гликопротеиновых гормонов, которые оказывают влияние на половые железы, обеспечивая гаметогенез и стероидогенез. Формы хорионического гонадотропина (постоянный ХГЧ, гипергликозилированный ХГЧ, свободная и гликозилированная  $\beta$ -субъединицы ХГЧ) служат маркерами в определении риска синдрома Дауна для плода, трофобластической болезни и других злокачественных опухолей человека, беременности, бесплодия.

Одновременно, хорионический гонадотропин относится к запрещенным для употребления субстанциям в спорте, так как увеличивает и нормализует производство тестостерона, которое подавляется во время и после длительного применения анаболических стероидов. У женщин гонадотропин не влияет на спортивные результаты и не запрещен к употреблению.

В настоящее время методы протеомики находят все большее применение в допинг-контроле, и одной из точек их приложения является определение гонадотропных гормонов. В данной работе с этого использовали метод протеомики bottom-up, заключающийся в получении и масс-спектрометрическом анализе пептидов целевого белка.

Процедура подготовки образца включала химическую и тепловую денатурацию белка, восстановление дисульфидных связей трибутилфосфином и алкилирование с использованием йодацетамида. Получение пептидов гонадотропина проводили путем триптического и химотриптического гидролиза. Также были проведены опыты по удалению углеводного компонента при помощи гликозидазы PNGase F.

Разделение полученных пептидов проводили методом UHPLC на C18 колонке с обращенной фазой ZORBAX 300 SB-C18 с использованием. Элюирование колонки проводили водным раствором 0,1% муравьиной кислоты с градиентом ацетонитрила. В качестве альтернативного метода разделения для высокополярных пептидов использовали HILIC хроматографию с элюцией градиентом аммоний ацетатного буфера в ацетонитриле.

В качестве детектора использовали масс-спектрометр высокого разрешения Agilent Q-TOF. Детектирование пептидов проводили в режиме полного сканирования в диапазоне  $m/z$  100-3200.

Использование комбинации вышеперечисленных подходов позволило идентифицировать более 90% последовательности  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц целевого белка. Были выявлены специфические пептиды (триптический гидролиз) для  $\alpha$  (AYPTPLR) и  $\beta$  (LPG CPR/VLQGVLPALPQVVCNYR) субъединиц ХГЧ.

Полученные результаты будут использованы при дальнейшей разработке метода количественного определения гонадотропных гормонов в моче человека.

*Tamashevskaya A. V., Bulak J. D., Syakhovich V. E.*

### **LC-MS ANALYSIS OF HUMAN CHORIONIC GONADOTROPIN**

Analysis was performed with human chorionic gonadotropin using LC-MS. After recovery, alkylation and tryptic hydrolysis were detected 90% of protein peptides.