

**Протеомное профилирование штаммов
Yersinia pestis, выделенных из природных очагов чумы
Северного Кавказа и Закавказья**



Ставрополь 2017



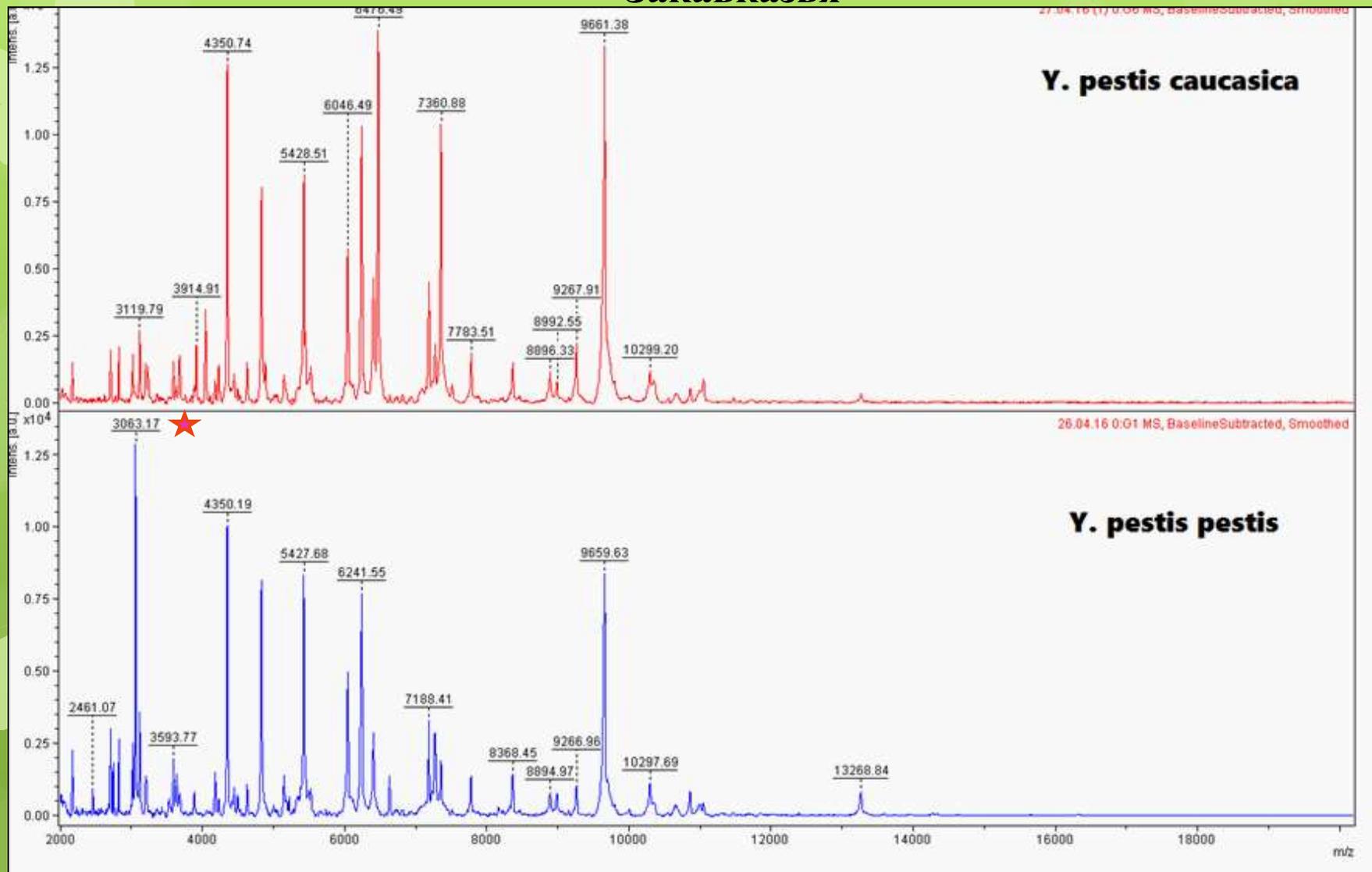
Цель работы – изучение штаммов *Yersinia pestis*, циркулирующих на территории Северного Кавказа, на основе MALDI-TOF масс-спектрометрического и протеомного анализа.

Объектом исследования являются штаммы *Yersinia pestis*, выделенные на территории природных очагов чумы Северного Кавказа и Закавказья, в период с 1951 по 2012 гг.

**Центрально-Кавказского высокогорного (01) – 10 штаммов,
Дагестанского равнинно-предгорного (03) – 10 штаммов,
Прикаспийского-Песчаного (43) – 10 штаммов,
Восточно-Кавказского высокогорного (39) – 10 штаммов,
Терско-Сунженского низкогорного (02) – 4 штамма,
Закавказского равнинно-предгорного (08-13) – 3 штамма
Закавказского высокогорного (04-06) – 3 штамма**



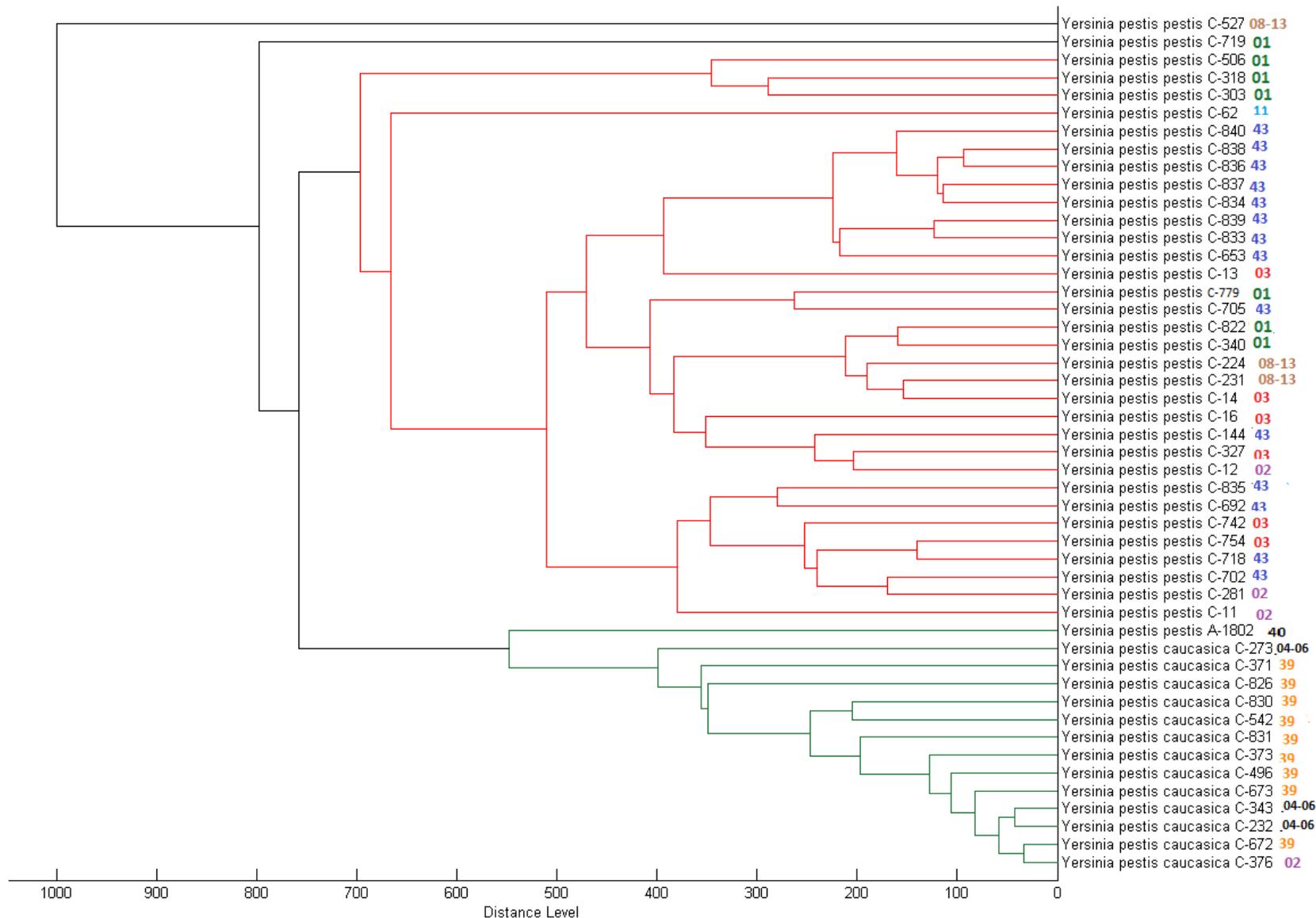
Масс-спектры основного (*pestis*) и неосновного (*caucasica*) подвидов *Yersinia pestis*, циркулирующих на территории Северного Кавказа и Закавказья





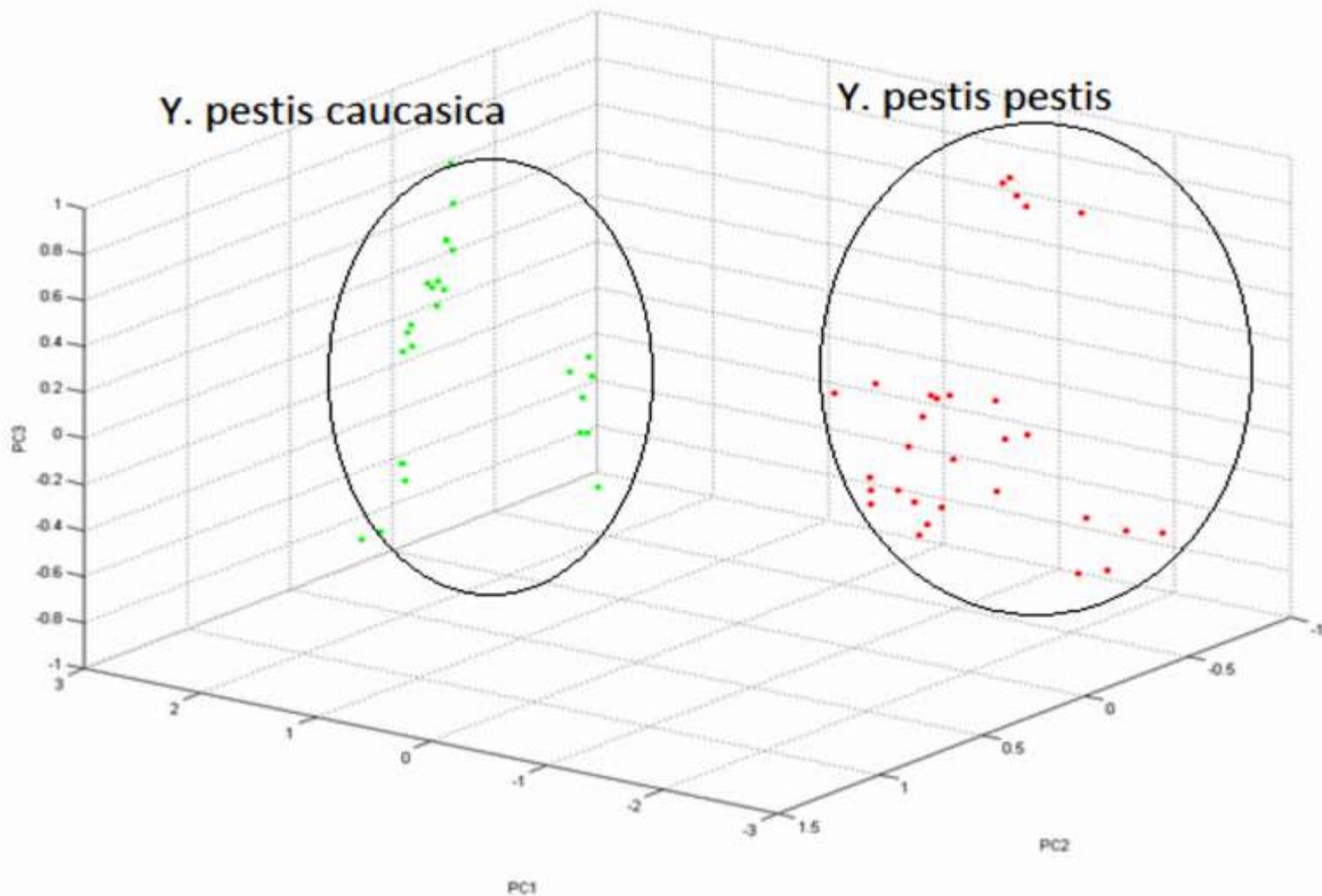
MSP дендрограмма штаммов *Yersinia pestis*, выделенных на территории природных очагов чумы Северного Кавказа и Закавказья

MSP Dendrogram



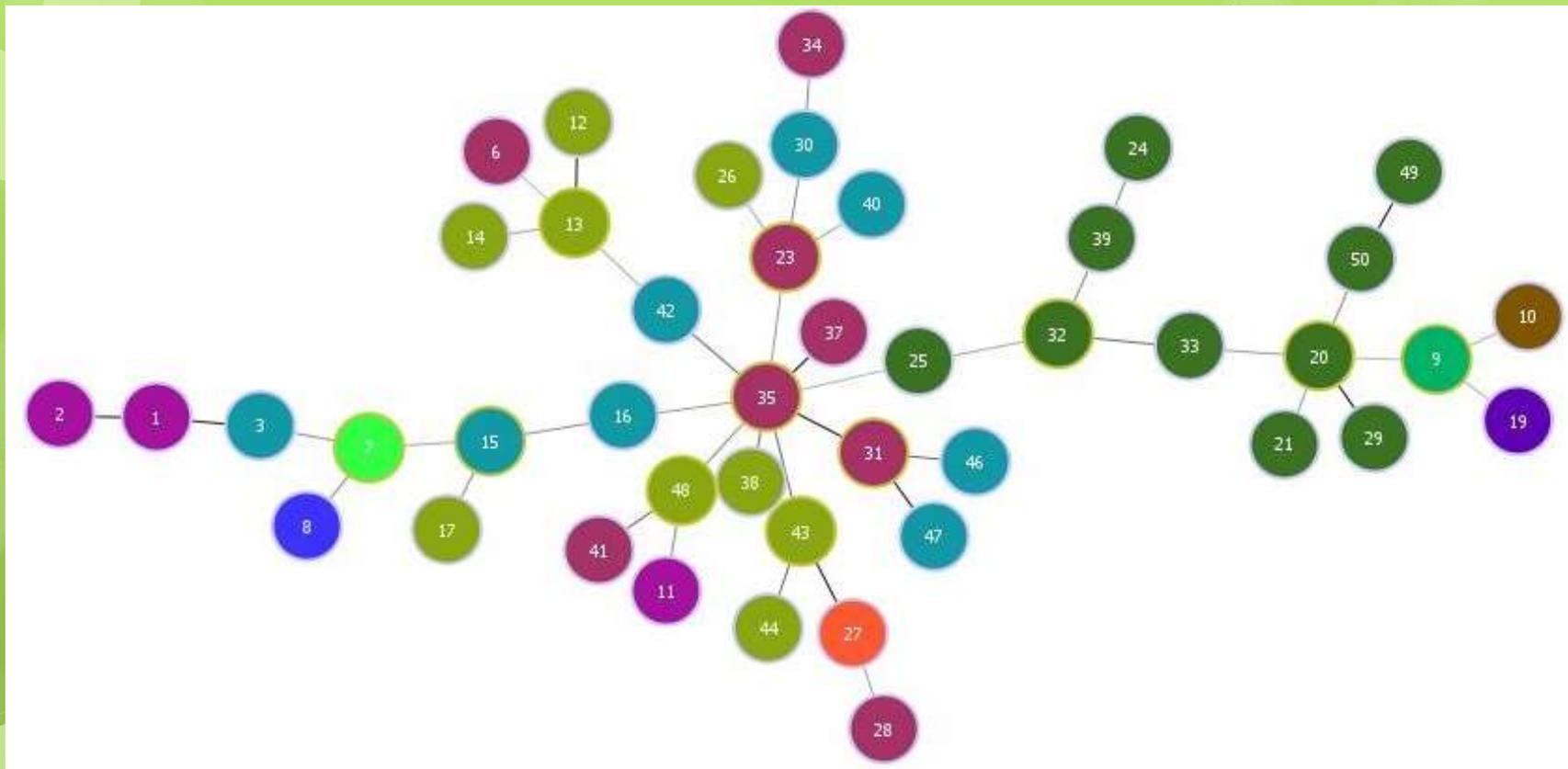


Кластерный анализ штаммов *Yersinia pestis* основного и неосновного подвидов с использованием метода главных компонент





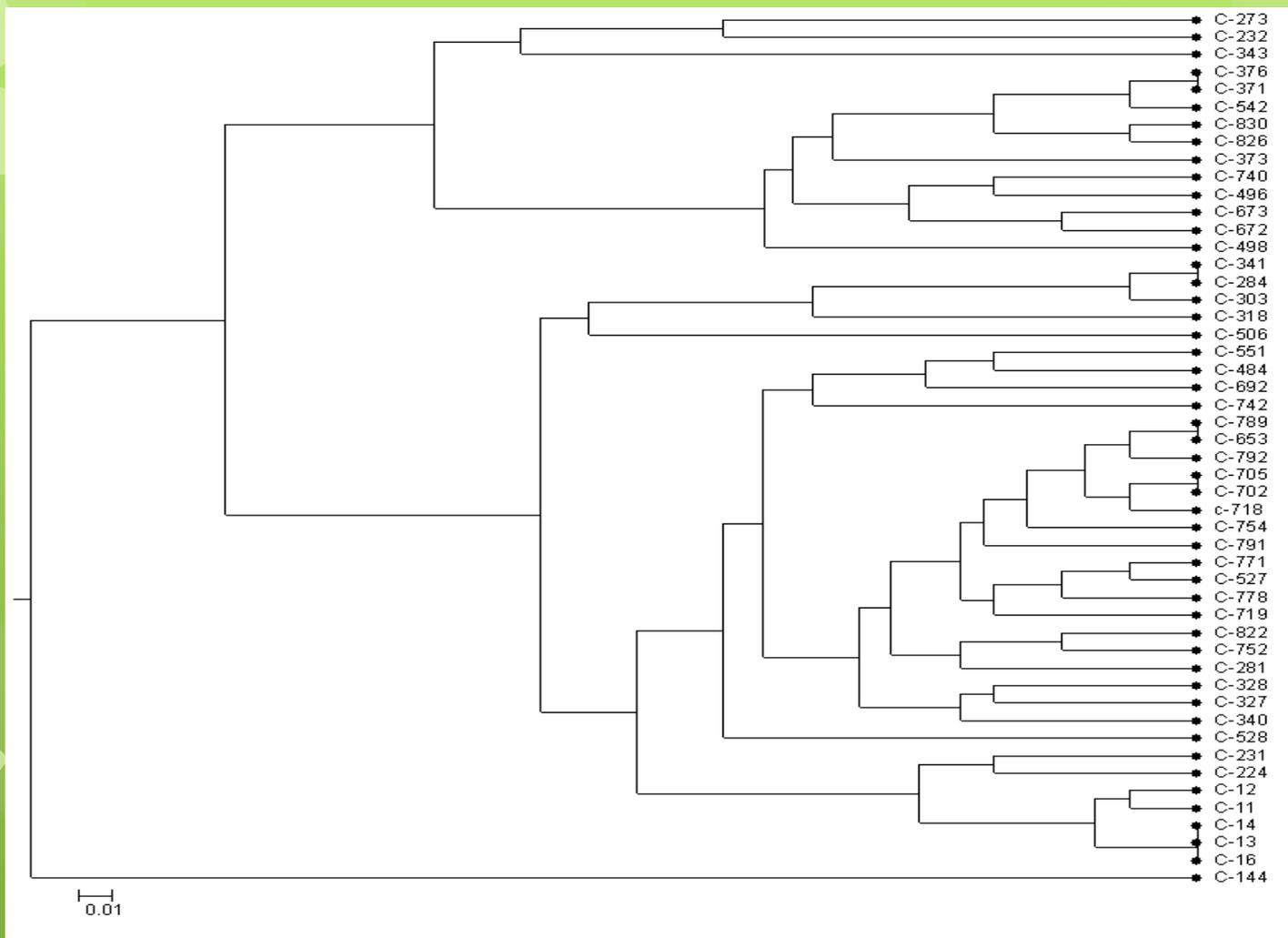
Дендрограмма филогенетического родства штаммов *Yersinia pestis* на основе 25 MLVA



MST дендрограмма, использован алгоритм goeBURST



Дендрограмма филогенетического родства штаммов *Yersinia pestis* на основе 25 MLVA



Использован алгоритм UPGMA



Протеомные профили биоваров основного подвида *Yersinia pestis*

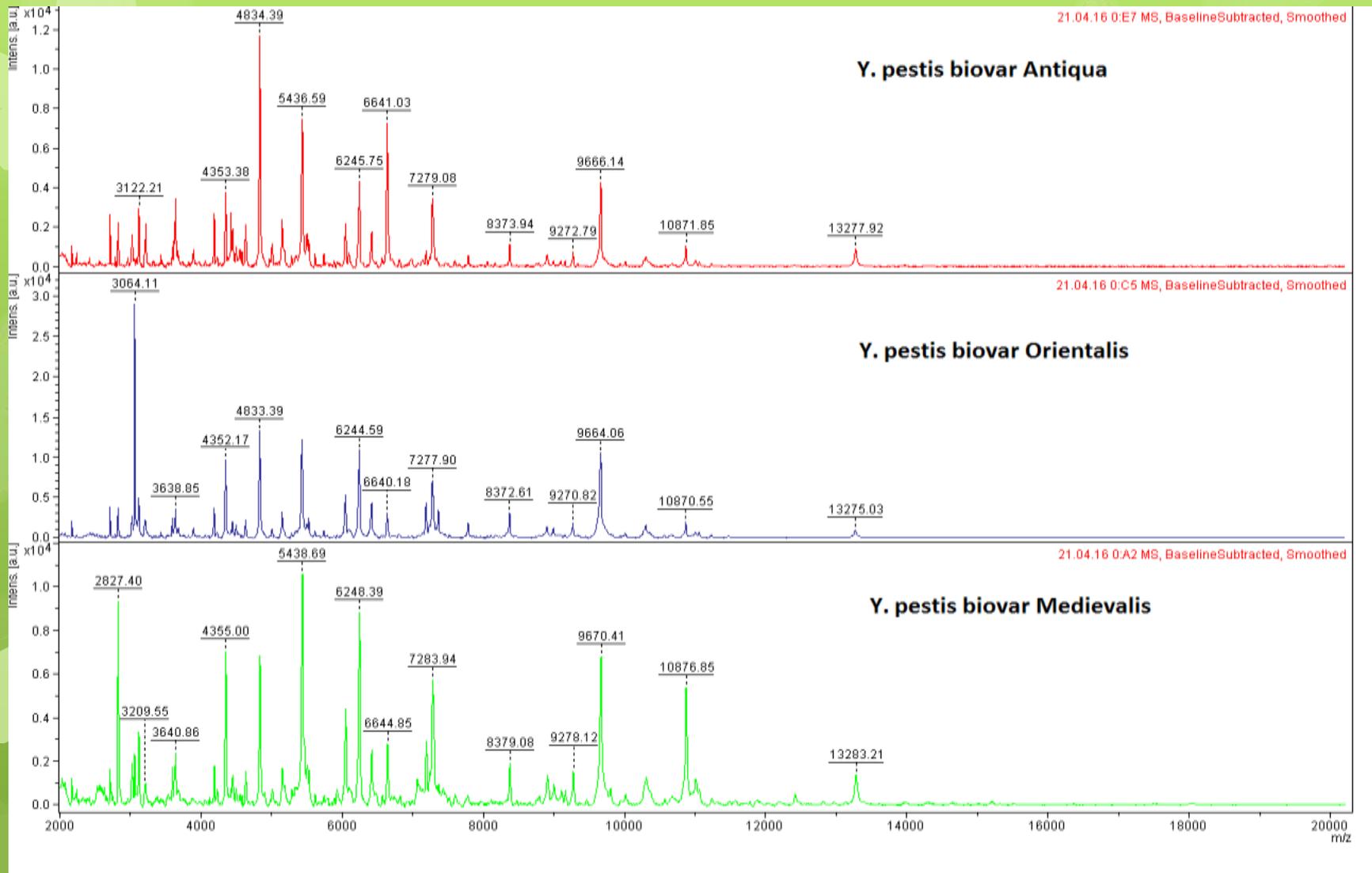
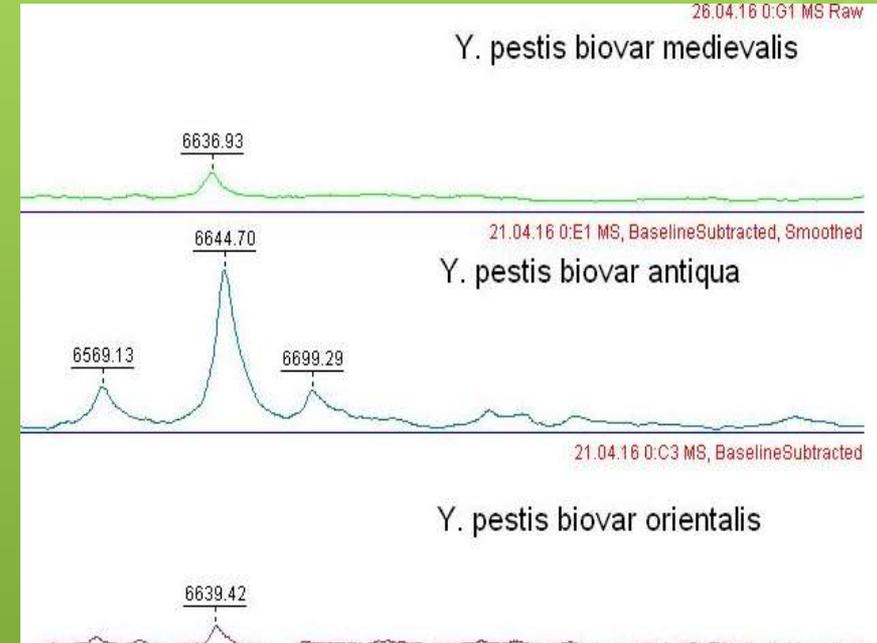
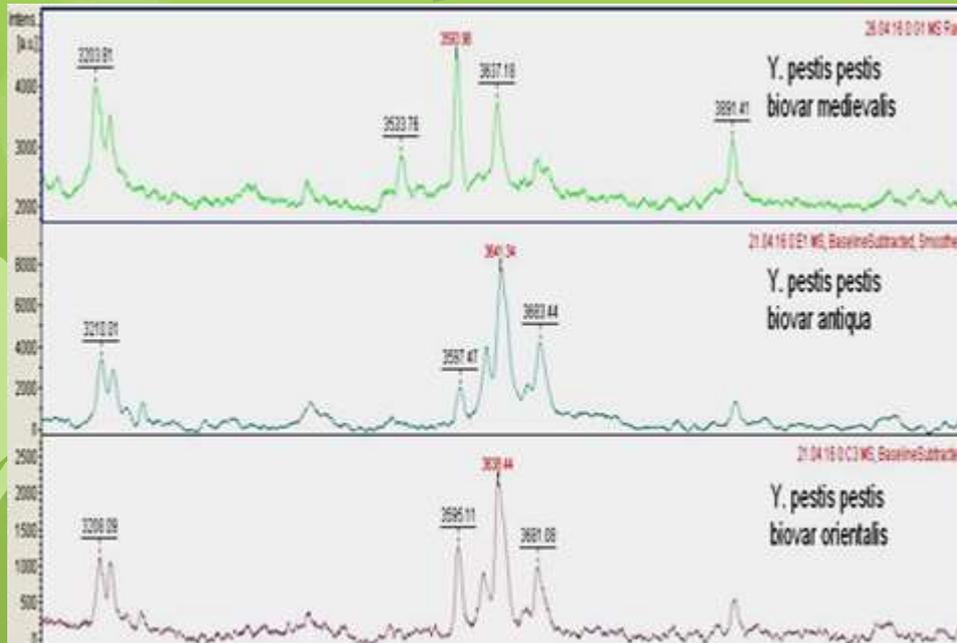




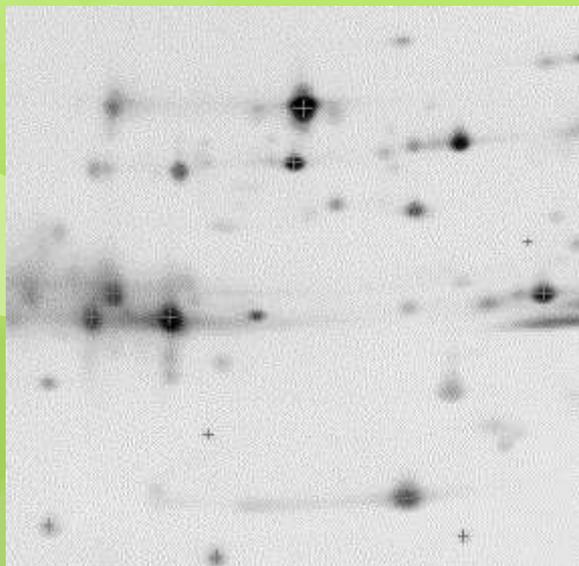
Схема дифференциации биоваров основного подвида *Yersinia pestis* на основе различий в MS профилях

Биовар	Diff 1					5623	5891	7452	Diff 2			Diff 3					
	3335	3594	3625	3640	3682				6560	6638	6700	7190	7274	7360	7452	7513	7785
Medievalis	Blue	Blue	Green	Blue	Green	Green	Green	Green	Green	Green	Orange	Orange	Orange	Green	Green	Purple	
Antiqua	Green	Blue	Blue	Blue	Blue	Red	Red	Red	Green	Green	Green	Orange	Orange	Orange	Purple	Purple	Green
Orientalis	Green	Blue	Blue	Blue	Blue	Red	Green	Green	Green	Green	Green	Orange	Orange	Orange	Green	Green	Purple





Стратегия анализа: 2DE + MALDI-MS



2D электрофорез белков

**Компьютерный анализ
изображений гелей**

**Вырезание и трипсинолиз
белков в фрагментах геля**

**Экстракция пептидов и
получение
MALDI масс-спектра
суммарного гидролизата**

**Post Source Decay-MS, TOF-TOF
фрагментация отдельных
пептидов**

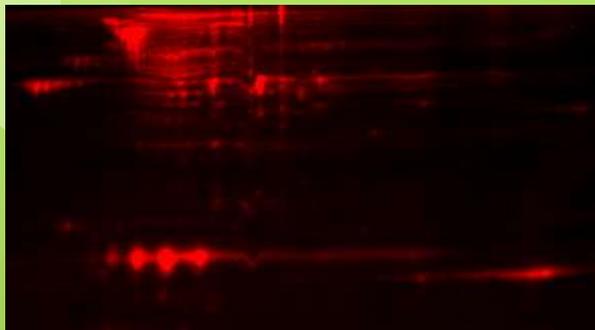
**Поиск в базе данных
измеренных масс пептидов
(пептидный фингерпринт)**

**Поиск в базе данных
измеренных масс
фрагментов**

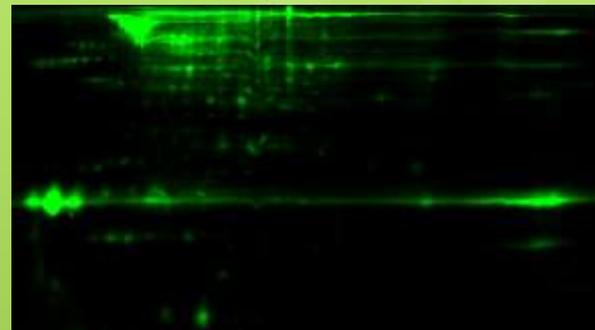


2 DIGE электрофорез кислоторастворимых экстрактов *Yersinia pestis*

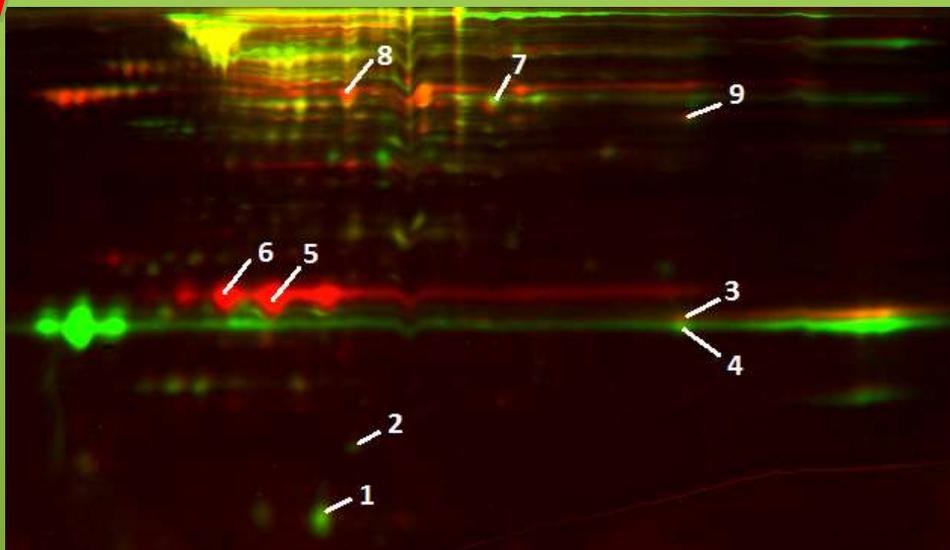
Y. pestis caucasica C-371



Y. pestis pestis C-484



2 DIGE *Y. pestis* 371/484





Результаты идентификации белков *Yersinia pestis* методом MALDI TOF/TOF MS

Образец (№ точки на геле)	Гель	Коэффициент совпадения	Ионы	Покрытие	ID гена в Базе данных	Молекулярная масса полипептида	Белок
1	Желтый (371/484)	298	906.5198 1315.6943 1453.8021 1481.7375	48%	CH10_YE RPA	10351	10 kDa chaperon OS
2	Желтый (371/484)	16	1172.8271	6%	Gi 221248 18	17327	yhbH sigma 54 modulator
3	Зеленый С-484	63	955,5703 1317,9359 1203,8060	14%	Gi 221256 89	22812	Hypothetical protein y1795
4	Красный С-371	31	1179.8179	5%	Caf1_YE RPE	17655	F1 capsule antigen OS
5	Красный С-371	180	1403.9551 1419.9490 1522.0328 1504.0441 1270.9449	15%	Gi 221253 86	34297	Cysteine synthase A



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



СВИДЕТЕЛЬСТВО
о государственной регистрации базы данных
№ 2017620225

База данных масс-спектров типичных и атипичных штаммов *Y. pestis*, выделенных из природных очагов чумы на Северном Кавказе и Закавказье

Правообладатель: *Федеральное казённое учреждение здравоохранения «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (РУ)*

Авторы: *см. на обороте*

Заявка № 2016621701
Дата поступления 22 декабря 2016 г.
Дата государственной регистрации в Реестре баз данных 21 февраля 2017 г.

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности



Г.П. Назиев Г.П. Назиев

Проведено белковое профилирование 50 штаммов чумного микроба, выделенных из природных очагов чумы на Северном Кавказе, в период с 1951 по 2012 гг.

Проведено MLVA-генотипирование исследованных штаммов с использованием панели из 25 локусов.

Создана база масс-спектров штаммов *Y. pestis*, циркулирующих на территории Северного Кавказа и Закавказья, предназначенная для проведения идентификации культур возбудителя чумы на базе ПО MALDI Biotyper v3.0.

Показано, что использование MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа для идентификации культур возбудителя чумы позволяет не только проводить видовую идентификацию, но и дифференцировать штаммы основного подвида – *Y. pestis pestis* и подвида *Y. pestis caucasica*. Так же проведено исследование возможности определения биоваров основного подвида *Y. pestis pestis* на основе выявления специфических белковых сигналов в диапазоне 2-20 кДа.



**БЛАГОДАРЮ ЗА
ВНИМАНИЕ !**



MSP Dendrogram

