

## **Nyálproteinek kimutatása MALDI TOF tömegspektrometriával**

**Rudolf Péter<sup>1</sup>, Márk László<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup>Kromat Kft. 1112 Budapest, Péterhegyi u. 98.

<sup>2</sup>Pécsi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Biokémiai és Orvosi Kémiai Intézet, 7624 Pécs, Szigeti út 12.

A kutatás-fejlesztési projekt az Európai Unió és Magyarország Kormánya által nyújtott társfinanszírozásban valósult meg. Kedvezményezett: "KROMAT" Műszerforgalmazó Kft., Projekt címe: Kis mintaigényű (néhány mikroliter), enzimatisz átalakulások kvalitatív és kvantitatív vizsgálatára alkalmas chip kifejlesztése, Megvalósítás időtartama: 2017.01.01. - 2018.12.31., Projekt kód: KFI\_16-1-2016-0191

### **Bevezetés**

A humán nyál egy összetett biológiai folyadék, mely nagy mennyiségben tartalmaz fehérjéket, amik jelentős feladatokat látnak el a szájüregen belül, és a védelmi funkciókat illetően, azon kívül is [1, 2].

A nyálat feloszthatjuk nyálmirigy-specifikus és komplex nyálra. Az összetétel változik napszakonként, a kor előrehaladtával, gyógyszeradagolással, szisztémás megbetegedés esetén is - ez lehet öröklött, autoimmun, malignitás és infekció is [3].

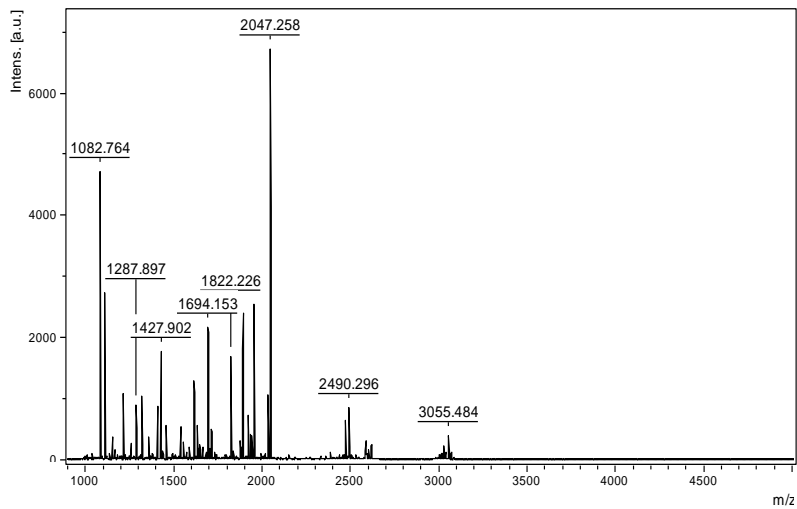
### **Módszer**

57 (41 lány, 16 fiú) egészséges, ortodonciai kezelés alatt álló pubertás nyálmintáit gyűjtöttük mindig azonos időben, reggel nyolckor. A nyálszekréciót nem stimuláltuk. A nyálminta-vétele Eppendorf csőbe történt, közvetlenül utána -20°C történt a tárolás, csakúgy, mint a felhasználások közötti időben.

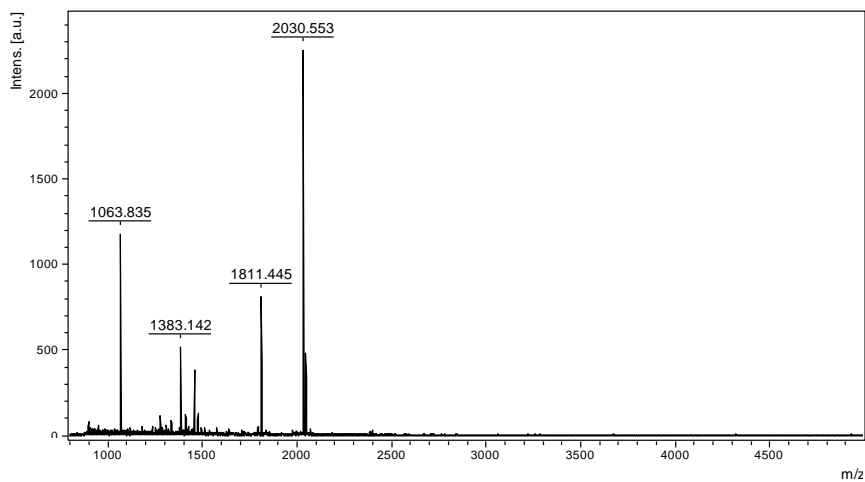
A nyálmintákat MALDI TOF tömegspektrometriás módszer segítségével vizsgáltuk. A tömegspektrometriás méréshez Autoflex II TOF/TOF típusú (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) készüléket használtuk. A MALDI TOF "peptid mass fingerprint (PMF)" elkészítésére a LIFT mode for PSD (post source decay) és CID (collisioninduceddecay) fragmentációt alkalmaztuk automatizált üzemmódban, FlexControl 2.4 számítógépes program vezérlésével.

### **Eredmények**

Eredményeink alapján a nyálban, mint diagnosztikai közegben számos enzim és növekedési hormon mutatható ki.

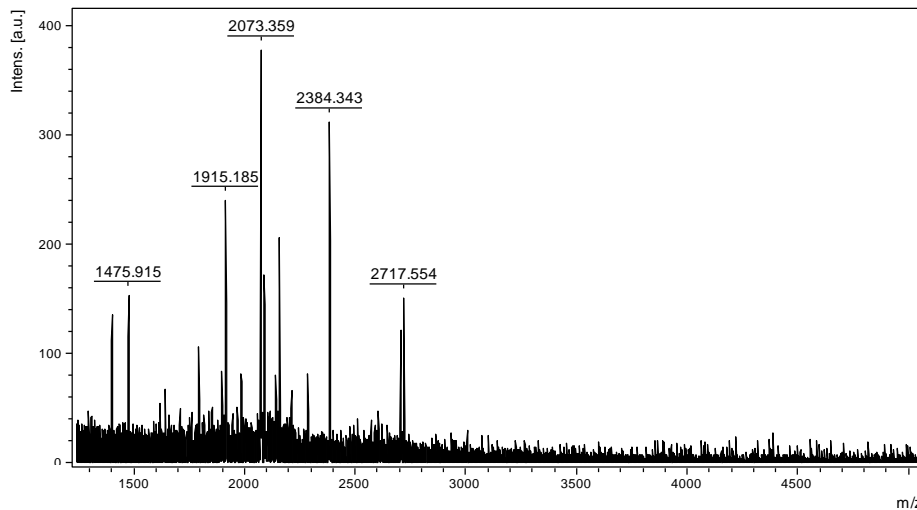


**1. ábra:** A növekedési hormon tömegspektruma



**2. ábra:** IGF-I tömegspektruma

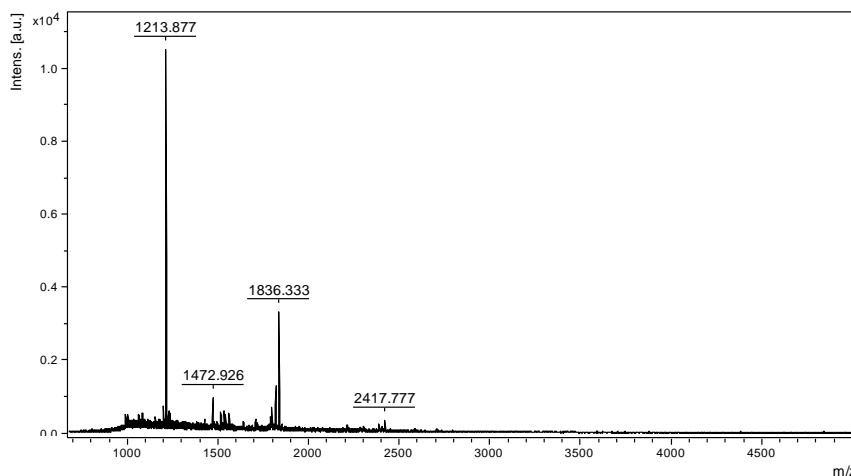
Bone Morphogenetic Protein 7, a TGF- $\beta$  család tagja. A mesenchymalis sejtek csont- és porcsejteké történő differenciálódását stimulálja. Kimutatták, hogy BMP-7 kezelés hatására osteoblast differenciálódást serkentő genetikai markerek száma nő.



**3. ábra:** Bone Morphogenic Protein 7 és Growth Arrest Specific Protein 7 tömegspektruma

Growth Arrest Specific Protein 7, intracelluláris apoptotikus sejtek termelik. Plazmában mutatták ki emelkedett mennyiségét sepsisben.

Transforming Growth Factor beta-3, citokinként ismert, sejt differenciálódásban, embriogenezisben és növekedésben van szerepe. Ezen kívül pedig a szájpád záródásában fontos, hiányában szájpádhasadék alakul ki. TGF- $\beta$  család tagja, amibe TGF- 1-3 és BMP 1-6 tartozik. Különböző sejt típusok potenciális inhibitora. Thrombocyták, macrophagok, lymphocyták, fibroblastok, csontsejtek, keratinocyták termelik.



**4. ábra:** TGF-  $\beta$ 3 és prekurzorának tömegspektruma

### Összefoglalás

A növekedésben részt vevő elsődleges fontosságú faktorok kimutatása egy jelentős kutatássorozat első lépése. Elsőként kutatócsoportunknak sikerült tömegspektrometriai módszerrel hGH, IGF-I kimutatása. Elképzelésünk szerint a növekedésben részt vevő faktorok mennyiségi analízise után, korrelációt keresve a növekedési fázissal, jelentős előrelépést tehetnénk, nem csupán az ortodoncia területén. A funkciók kezeléseinek elkezdésének legmegfelelőbb időpontja a pubertáskori növekedési kiugrás. Ennek meghatározására a fogszabályozásban ma használt carpal index az egyetlen megbízható eljárás. Ezzel megállapítható, hogy a páciens milyen növekedési fázisban van. A módszer alkalmazása

azonban sugárterheléssel jár, ezért lenne jó egy non-invazív eljárás bevezetése. Első lépésként detektáltuk a növekedésben elsődleges fontosságú fehérjéket. A dolgozatban elsősorban a már sok irodalmi háttérrel rendelkező növekedési hormon és IGF-I élettani hatásaira és a növekedés során betöltött szerepükre fektettük a hangsúlyt, mivel változásuk az életkor előrehaladtával már bizonyított. Ezek mellett egyéb potenciális növekedési markerek is felsorolásra kerültek. Következő lépésként egy olyan módszer kidolgozása a célunk, mellyel a növekedési markerként funkcionáló proteinek mennyiségi analizisét elvégezhetjük. Ez után már csupán csak az lesz a dolgunk, hogy azt a már felvett carpal index-el vessük össze.

#### **Irodalomjegyzék**

- [1] RANTONEN PJF, PENTILLÄ I, MEURMAN JH, SAVOLAINEN K, NÄRVÄNEN S, HELENIUS T: Growth hormone and cortisol in serum and saliva. *Acta Odontol Scand.* 2000; 58: 299-303.
- [2] KAUFMAN E, LAMSTER IB: The diagnostic applications of saliva. A Review. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13 (2): 197-212.
- [3] SCHIPPER R, LOOF A, DE GROOT J, HARTHOORN L, DRANSFIELD E, VAN HEERDE W: SELDI-TOF-MS of saliva: Methodology and pre-treatment effects. *J Chromatography* 2007; 847: 45-53.