ФГБНУ
Институт биомедицинской химии
имени В.Н.Ореховича

ИБМХ

Уникальная научная установка

«Авогадро»

ВВЕДЕНИЕ

Комплекс «Авогадро» для определения белков в низких и сверхнизких концентрациях с целью выявления биомаркеров социально-значимых заболеваний» - зарегистрированная в 2020 году уникальная научная установка, действующая в ИБМХ.

Цель создания УНУ «Авогадро» – переход к новым диагностическим возможностям на основе детекции отдельных молекул и обнаружение новых белков в плазме крови и тканях человека. Предпосылками создания УНУ «Авогадро» является поиск клинически значимых единичных белковых маркеров. Существующие методы медицинской диагностики могут детектировать сигнал только в случае наличия, как правило, миллиардов и миллионов биомакромолекул в микролитре биологической жидкости. Задолго до проявления клинических симптомов, в начале патологического процесса в крови появляются единичные биомакромолекулы – предвестники заболевания. Сведения о единичных биомакромолекулах – основа принципиально нового подхода в ранней диагностике и предиктивной медицине. В отличие от молекул нуклеиновых кислот, молекулы белков не могут быть размножены и зарегистрированы методами, подобными ПЦР-анализу. Для регистрации единичных молекул белков нужен особый подход на основе комбинации методов анализа с применением молекулярных детекторов и методов фишинга биомакромолекул, позволяющих эффективно концентрировать белки на специально функционализированной поверхности. Этот подход реализован в УНУ «Авогадро».

Исследования на УНУ позволят преодолеть методологический барьер, возникший в протеомных исследованиях вследствие недостаточной чувствительности традиционных методов биоанализа. Известно, что геном человека кодирует информацию о ~20 000 белков, из которых надежно идентифицировать в плазме крови человека удалось только ~3 500 белков (~17% протеома человека, согласно J. Proteome Res. 2017, 16, 12, 4299–4310).

Не выявленными на белковом уровне в крови остаются еще более 16 000 белков.

Предлагаемый в УНУ «Авогадро» подход ориентирован на полную инвентаризацию протеомного состава крови и выявление среди всех обнаруженных белков новых клинически значимых биомаркеров, которые будут внедрены в систему малоинвазивной диагностики.

УНУ «Авогадро» представляет современные технологии для исследований отдельных биомакромолекул – белков, нуклеиновых кислот, клеток и вирусов. В том числе возможны: детекция биомакромолекул, присутствующих в биологических образцах при низких/сверхнизких концентрациях; подсчет единичных биомакромолекул с последующим анализом их физико-химических и функциональных свойств; идентификация биомакромолекул методами масс-спектрометрии, биоинформатический анализ с целью установления функциональных связей.

Исследования с привлечением оборудования и методического инструментария УНУ «Авогадро» позволят максимально реализовать и развить имеющийся в Российской Федерации научный задел в области постгеномных технологий и получить результаты мирового уровня. В ИБМХ накоплен обширный опыт в области разработок высокочувствительных методов детекции и сотрудничества с лидирующими отечественными и зарубежными научными группами в рамках реализации международного проекта «Протеом человека» и проектов, поддерживаемых в рамках грантового финансирования.

Постгеномные технологии развиваются уже более 20-ти лет, обеспечивая исследователям широкоформатный охват происходящих в организме молекулярных событий. Текущие достижения протеомики показывают отсутствие биологических маркеров патологических и физиологических состояний организма, которые могут быть определены на текущем уровне аналитической чувствительности – в лучшем случае, до 10^{-12} М (пикомолярные концентрации). Таким образом, одной из наиважнейших задач протеомных технологий является повышение чувствительности

аналитических методов для анализа низко- и ультранизкокопийных белков (от 10^{-12} М до 10^{-18} М). Именно в этом диапазоне могут находиться биомаркеры различных заболеваний, особенно маркеры их ранних стадий и фармакологически-значимые белки-мишени.

Использование нанотехнологий в области протеомики (Ivanov et al., 2006) представляется перспективным решением проблемы недостаточной чувствительности аналитических методов.

Необходимость работы на уровне единичных молекул можно охарактеризовать термином «аналитическая миопия» (Aebersold et al., 2018), то есть, используя аналитические методы, ученые могут определить наличие молекулы в ряде случаев, но не могут определить её специфику с учетом того разнообразия молекул, которое представлено в нашем организме, из-за чего теряется прецизионность. Эта проблема не возникает при орфанных заболеваниях или хромосомных перестройках, но она остро ощущается в области социально-значимых заболеваний. Несмотря на успешное развитие омикс-технологий (в том числе, геномики, транскриптомики, протеомики) за последние 20 лет, число клинически значимых биомаркеров остается на низком уровне. Такое малое количество несопоставимо с тем объемом технических и интеллектуальных ресурсов, которые были затрачены на эту проблематику.

Биомолекулы нет ?

ИЛИ

Биомолекула НЕ обнаружена ?

ОТ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ К РЕГИСТРАЦИИ ЕДИНИЧНЫХ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ

Подход на основе единичных молекул подразумевает, что низкокопийная белковая матрица рассматривается не в качестве ансамбля целевых молекул с усредненными физико-химическими свойствами, а в качестве системы индивидуальных молекул, компоненты которой различимы по различным физико-химическим свойствам.

УНУ «Авогадро» носит имя итальянского химика неслучайно. Известно, что Амедео Авогадро принадлежат два принципиально важных и обоснованных утверждения:

1) все вещества имеют дискретную природу;

2) в равных объемах любых газов при одинаковых условиях содержится одно и то же число молекул (закон Авога́дро).

Число Авогадро широко применяется в биохимии при расчетах молярных характеристик слабо концентрированных растворов, где количество молекул существенно меньше молекул растворителей.

Задача

Рассчитать число молекул белка (N_v) в 1 мкл раствора (V) с молярной концентрацией 10^{-12} М (C_v).

По формуле

$$N_v=N_A*C_v*V$$

получим:

$$N_v=6{,}02*10^{23}*10^{-12}*10^{-6}=10^6$$ **молекул белка в штуках.**

Количество молекул в 1 мкл раствора с различной молярной концентрацией

Концентрация раствора биомакромолекул (М)	Количество биомакромолекул (штуки)
10^{-6} (микромолярный)	10^{12} (триллионы)
10^{-9} (наномолярный)	10^{9} (миллиарды)
10^{-12}(пикомолярный)	10^{6} (миллионы)
10^{-15}(фемтомолярный)	10^{3} (тысячи)
10^{-18}(аттомолярный)	1 (единичные)

Переход к единичным биомакромолекулам можно осуществить, используя обратное число Авогадро R_{AV}, которое можно записать, как

$$\mathbf{R_{AV} = 1/N_A = 10^{-24}\ моль/молекул},$$

где N_A – число Авогадро, равное $6{,}02*10^{23}$ молекул/моль.
Или выразить это, как

$$\mathbf{R_{AV} = 1\ молекула/литр.}$$

Задача

Рассчитать количество копий белка (N) в образце с концентрацией 10^{-18} М (С) в случае плазмы крови, объемом 1 мкл, и в случае клетки печени, объемом10 пкл. При расчете использовать обратное число Авогадро R_{AV}.

По формуле

$$N=C*V/R_{AV}$$

в случае плазмы крови получим:

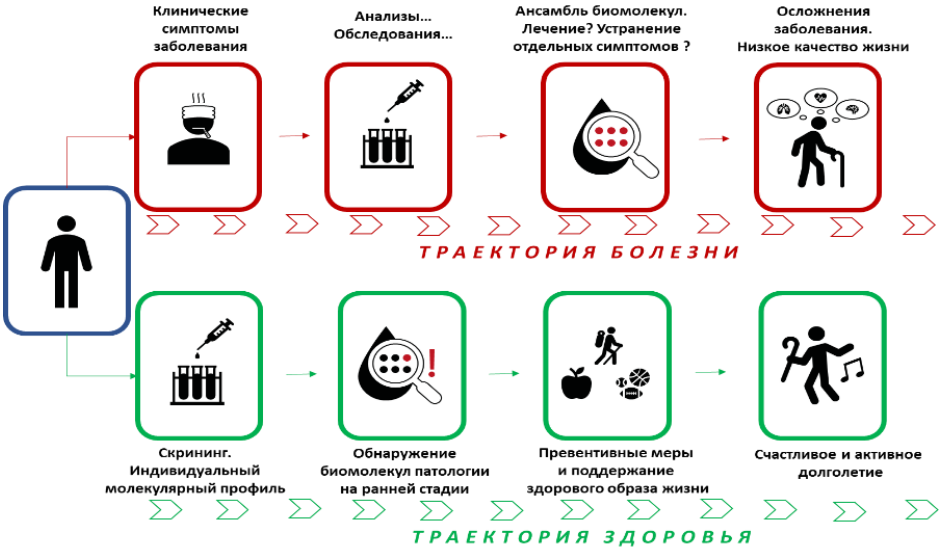
$$N=10^{-18}*10^{-6}/10^{-24}=1 \text{ молекула/микролитр}$$

в случае клетки печени:

$$N=10^{-18}*10^{-11}/10^{-24}=10^{-5} \text{ молекул, т.е. 1 молекула в } 10^{5} \text{ клетках.}$$

УНИКАЛЬНАЯ НАУЧНАЯ УСТАНОВКА «АВОГАДРО»

Для решения ряда проблем прецизионной медицины была создана УНУ «Авогадро» предназначенная для аккумуляции и анализа данных, полученных методами, регистрирующими сигнал от единичных молекул. С помощью интеграции методических и технических подходов, в УНУ «Авогадро» реализуются задачи по определению биомакромолекул в низких и сверхнизких концентрациях, что может послужить основой предсказательной диагностики. До момента диагностики заболевания предполагается, что патологический процесс зарождается в довольно локальном участке, развивается в нем, после чего некоторые молекулы попадают в кровяное русло в сверхнизких или даже единичных количествах. Способы детекции этих молекул на уровне существенно более высокой чувствительности выведут омикс-технологии на новый уровень клинического применения. УНУ «Авогадро» ориентирована на исследование биосистем в норме и патологии на уровне единичных биомакромолекул и диагностику заболевания на ранней стадии развития патологического процесса.



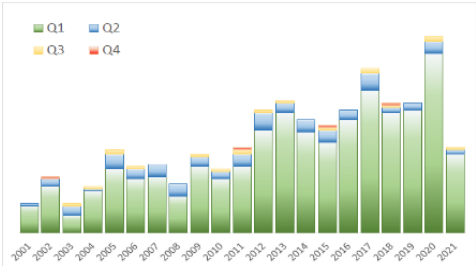
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ДЕТЕКТОРЫ

Основу УНУ «Авогадро» составляют молекулярные детекторы – инновационные нанотехнологические разработки, которые позволяют достаточно успешно решить проблему подсчета единичных молекул биологических объектов. Это стало возможно благодаря уменьшению размера чувствительного элемента детектора до размера биомакромолекулы, что позволяет зарегистрировать единичную молекулу и в дальнейшем присвоить ей определенную функцию. Особенность исследований при использовании молекулярных детекторов - низкокопийная белковая матрица рассматривается не в качестве ансамбля целевых молекул с усредненными физико-химическими свойствами, а в качестве системы индивидуальных молекул, компоненты которой различимы по физико-химическим свойствам.

На текущий момент к молекулярным детекторам относятся атомно-силовой микроскоп, нанопроводной детектор, нанопоровый секвенатор и оптический пинцет. С развитием технологий этот список может быть расширен за счет нового поколения приборов.

Благодаря УНУ «Авогадро» уже стало возможным регистрировать сигнал от единичных биомакромолекул.

Внедрение методов на основе молекулярных детекторов в биоаналитическую практику является актуальным направлением исследований в области биологии и медицины. Это подтверждается значительным ростом количества публикаций, посвященных детекции биомолекул, присутствующих в растворах в фемто- и аттомолярной концентрации.



Количество публикаций с ключевым словом «femtomolar» в базе PubMed возросло с 13 в 2001 году до 95 в 2020 году. Общее количество – 830 публикаций

АРХИТЕКТУРА УНУ «АВОГАДРО»

МЕТОД ФИШИНГА

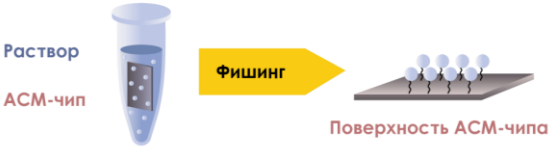
Метод фишинга подразумевает вылавливание биомакромолекул из большого объема раствора на малую поверхность детектора, что позволяет значительно повысить чувствительность аналитической системы. Комбинация методов фишинга и молекулярных детекторов – основа беспрецедентного высокочувствительного биоанализа, который может быть реализован с использованием УНУ «Авогадро».

Если брать в качестве примера объемную концентрацию 10^{-11}М, то в результате фишинга она перейдет в поверхностную концентрацию 10^{-3} М, что значительно облегчит детекцию биомакромолекул. Фактор концентрирования составляет 8 порядков.

Задача

Рассчитать поверхностную концентрацию, а также фактор концентрирования в результате фишинга белка из раствора с объемной концентрацией $C_v=10^{-11}$ М на поверхность АСМ-чипа. При этом площадь АСМ-чипа $S=1мм^2$, объем раствора $V=1$ мл, высота биомолекул $h=5$ нм.

Для наглядности изобразим схему процесса



Поверхностную концентрацию находим из формулы:

$C_{vs}=(C_v*V)/(S*h)$

Получим $C_{vs}=10^{-3}$ М.

Тогда фактор концентрирования составит

$F= C_{vs}/C_v= 10^{-3}/10^{-11}=10^8$.

АТОМНО-СИЛОВАЯ МИКРОСКОПИЯ (АСМ)

Один из блоков УНУ «Авогадро» представлен *атомно-силовыми микроскопами (АСМ)* нового поколения. На текущий момент активно использованы в работе АСМ Solver Next Titanium и АСМ Dimension FastScan, которые представляют собой многофункциональные платформы для визуализации биологических образцов от одиночных молекул до живых клеток на (суб-) нанометровом разрешении как в жидких средах, так и при температуре окружающей среды. Данные сканирования позволяют получить топографию поверхности (в том числе высоту биомакромолекул и комплексов), а также рассчитать силу адгезии, диссипацию энергии, деформацию и модуль Юнга. Принцип работы АСМ основан на регистрации силового взаимодействия между поверхностью исследуемого образца и зондом. Зонд представляет собой наноразмерную иглу на конце упругой консоли (кантилевера). Появление изменений рельефа (возвышенности, впадины) под иглой приводит к изменению силы, действующей на зонд, следовательно, и к изменению величины изгиба кантилевера. Регистрируя величину изгиба, можно сделать вывод об особенностях рельефа поверхности.

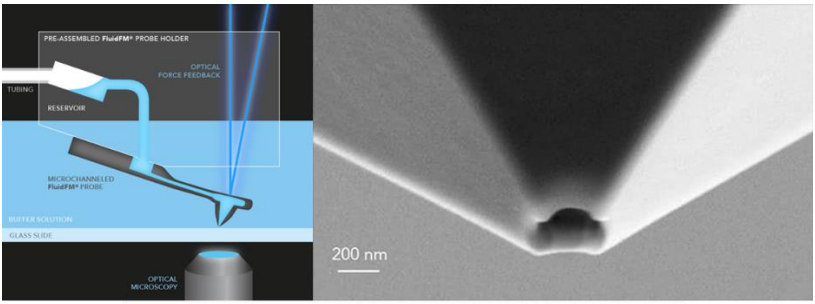
В перспективе возможности модуля АСМ будут расширены за счет интегрирования комбинированной системы АСМ/Оптический пинцет, которая позволит использовать функционал АСМ и проводить манипуляции с единичными макромолекулами, а также определять слабое межмолекулярное взаимодействие.

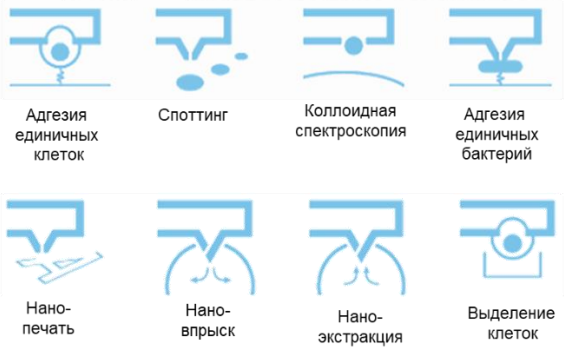
Также планируется расширение спектра применения АСМ за счет технологии *FluidFM™,* которая позволит манипулировать единичными объектами на поверхности и пиколитровыми объемами приповерхностного слоя жидкости (изображения приведены с сайта https://www.cytosurge.com/).

Биологические объекты для исследований методом АСМ - нуклеиновые кислоты, белки, комплексы белков и нуклеиновых кислот, клетки, вирусы.

ACM Dimension FastScan
(Bruker, Германия)

Solver Next Titanium
(НТ-МДТ, Россия)





Технология FluidFM™
(Cytosurge, Швейцария)

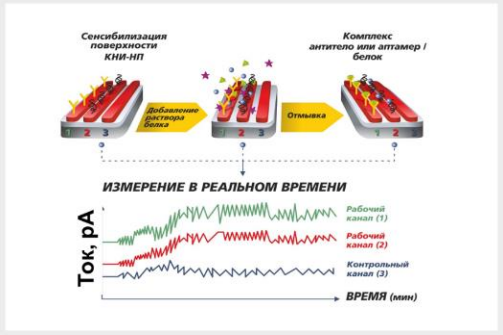
КОМБИНАЦИЯ АСМ-МС

Несмотря на широкий спектр возможностей АСМ (определение высоты, упругости, жесткости биомакромолекул и т. д.), идентифицировать биомакромолекулы пока возможно только с помощью *метода масс-спектрометрического анализа*. Эта проблема решена в УНУ «Авогадро» за счет использования комбинации атомно-силового микроскопа и масс-спектрометра (МС). Блок МС предназначен для идентификации пептидных и белковых биомаркеров в высоком разрешении. В структуру УНУ могут быть внедрены масс-спектрометры любого типа. Так, инжекторная приставка MALDI/ESI к масс-спектрометру Orbitrap Velos позволяет проводить ионизацию прямо с поверхности чипов.

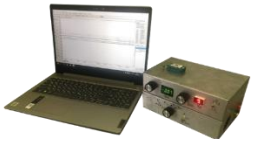
Сконцентрированные на поверхности чипов к молекулярным детекторам биомакромолекулы после специальной пробоподготовки направляются на масс-спектрометрический анализ для идентификации с помощью типовых протеомных методов. Это позволяет решить техническую задачу инвентаризации белков, а также получить молекулярное профилирование для физиологических и патофизиологических процессов. Такая высокочувствительная технология позволит выявлять серологические маркеры белковой природы для социально-значимых заболеваний, что обеспечит востребованность с точки зрения клинической диагностики.

НАНОПРОВОДНОЙ ДЕТЕКТОР

Один из молекулярных детекторов УНУ «Авогадро» представлен *нанопроводным биосенсором (НП-биосенсор)*, разработанным совместно с Институтом физики полупроводников (ИФП СО РАН, г. Новосибирск). Принцип работы такого биосенсора основан на регистрации тока, протекающего через наноразмерные проволоки (нанопровода). Биологическая молекула при адсорбции на поверхность нанопровода приводит к изменению ее поверхностного потенциала. Таким образом, биомакромолекулу можно считать «виртуальным» затвором, изменяющим проводимость нанопроволодных сенсорных элементов чипа. Для биоспецифического анализа необходима сенсибилизация нанопроводов с использованием антител или аптамеров. В таком случае на поверхности нанопровода за счет аффинного взаимодействия происходит формирование комплексов антитело-антиген или аптамер-антиген. Результат этого процесса регистрируется электронной системой НП-биосенсора и позволяет выявить целевой белок в биоматериале с высокой чувствительностью.



Чип к нанопроводному детектору (ИФП СО РАН совместно с НЗПП с ОКБ и ИБМХ, Россия)



Электронно-измерительный блок нанопроводного детектора на основе многоканальной системы сбора данных (СССОД-10, ООО Агама, Россия)

НАНОПОРОВЫЙ СЕКВЕНАТОР

Модуль «Нанопоровый секвенатор» предназначен для регистрации генетически-детерминированных изменений единичных молекул нуклеиновых кислот, а также информации о типах аминокислотных последовательностей и их уровне экспрессии, образованных в процессе альтернативного сплайсинга. Необходимость данных исследований обусловлена важностью аннотаций белков при протеомном профилировании. Кроме того, получение сведений о пути реализации генетической информации при различных состояниях позволит не только выявлять в ряде случаев биомаркеры на геномном или транскриптом уровнях, но и отслеживать пути развития заболеваний с последующей идентификацией фармакологических мишеней для создания новых лекарств. Нанопоровое секвенирование позволяет обнаруживать и идентифицировать сплайс-форм белок-кодирующих генов. Альтернативный сплайсинг является одним из основных факторов протеомного разнообразия. Результаты нанопорового секвенирования показали, что профили сплайсинга одного и того же гена могут существенно отличаться между индивидами. Таким образом, сплайс-формы потенциально могут представлять собой биомаркеры нового поколения. Точное определение сплайс-форм критически важно как с точки зрения диагностики, так и разработки и тестирования лекарств.

Нанопоровые секвенаторы PromethION и MinION (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания)

ДЕТЕКЦИЯ ЕДИНИЧНЫХ БИОМАКРОМОЛЕКУЛ - ЧТО УЖЕ ПОКАЗАНО

АСМ/МС анализ белков на функционализированных чипах для молекулярных детекторов *показана возможность детекции:*

Вирус гепатита С КОР-антиген, Вирус гепатита В антиген, ВИЧ-1 белок GP-120 [8, 12, 34]	Биологические образцы
TG1F1, NFACT1, TCF-4, GATA-6, ZFP24, SCAA-1 (белки, сопровождающие развитие онкозаболеваний) [14]	
Bcl-2, MT3, TYMS (белки, сопровождающие развитие аутистических растройств) [15]	
Белки 18 хромосомы (Serpin b3, Desmoglein-1, YES, CSF-4, RAX и др.) [14]	

Экспериментальные значения *DL(DLexp)*, достигнутые при использовании различных типов АСМ-фишинга

Тип фишинга	Лиганд	Целевой белок	Условия фишинга			DL_{exp} M
			Объем раствора V, мл	S_{area}, мм^2	Время, мин	
Биоспецифический обратимый [2,10,35]	антитело	HCVcoreAg	1	1,8	60	10^{-11}
			50			10^{-11}
	аптамер (A15)		1			10^{-13}
Биоспецифический необратимый [2]	модифицированные антитела	HCVcoreAg	1	1,8	60	10^{-15}
			50			10^{-16}
Неспецифический обратимый [11]	–	Цитохром b5	100	0,07	90	10^{-17}
Неспецифический необратимый (химический) [40]	– (химически активированная поверхность)	Пероксидаза хрена	1	0,03	180	10^{-15}
			500 (лиофил.)	1,8		10^{-17}

Результаты обнаружения белка в буферных растворах в сыворотке крови с помощью НП-биосенсора

Условия измерения	Целевой белок				
	HBsAg [12, 26]	АФП [26]	D-NFATc1 [24]	HCVcoreAg [25,26]	
Минимальная концентрация, при которой обнаружен белок в растворе, C_{min}M	$7{,}0\times10^{-14}$	$3{,}5\times10^{-15}$	$2{,}5\times10^{-15}$	$2{,}0\times10^{-15}$	сыворотка

HBsAg – поверхностный антиген вируса гепатита В
АФП – альфа-фенопротеин
D-NFATc1 – ядерный фактор активированных Т-клеток
HCVcoreAg – КОР-антиген вируса гепатита С

Список ключевых работ коллектива ИБМХ

1. Archakov A, Aseev A, Bykov V, Grigoriev A, Govorun V, Ivanov V, Khlunov A, Lisitsa A, Mazurenko S, Makarov AA, Ponomarenko E, Sagdeev R, Skryabin K. Gene-centric view on the human proteome project: the example of the Russian roadmap for chromosome 18. Proteomics 2011 May;11 (10):1853–6.
2. Archakov A, Ivanov Y, Lisitsa A, Zgoda V. Biospecific irreversible fishing coupled with atomic force microscopy for detection of extremely low-abundant proteins. Proteomics. 2009 Mar;9(5):1326-43. doi: 10.1002/pmic.200800598. PubMed PMID: 19253286.
3. Archakov A, Zgoda V, Kopylov A, Naryzhny S, Chernobrovkin A, Ponomarenko E, Lisitsa A. Chromosome-centric approach to overcoming bottlenecks in the Human Proteome Project. Expert Rev. Proteomics 2012 Dec;9 (6):667–76.
4. Archakov AI, Ivanov YD, Lisitsa AV, Zgoda VG. AFM fishing nanotechnology is the way to reverse the Avogadro number in proteomics. Proteomics. 2007 Jan;7(1):4-9. PubMed PMID: 17154275.
5. Balashova E.E., Maslov D.L., Lokhov P.G., A Metabolomics Approach to Pharmacotherapy Personalization., Journal of Personalized Medicine, 2018, 8(3), 28
6. Bukharina, N.S., Pleshakova, T.O., Ziborov, V.S., Fokin, D.A., Ivanova, N.D., and Ivanov, Y.D. (2017). Atomic force microscopy analysis of deformation of single cytochrome CYP102A1 molecules. Sci. Adv. Mater. *9*, 135–143.
7. Ivanov, Y.D., Bukharina, N.S., Frantsuzov, P.A., Pleshakova, T.O., Kanashenko, S.L., Medvedeva, N.V., Argentova, V.V., Zgoda, V.G., Munro, A.W., and Archakov, A.I. (2012b). AFM study of cytochrome CYP102A1 oligomeric state. Soft Matter *8*, 4602–4608.
8. Ivanov, Y.D., Bukharina, N.S., Pleshakova, T.O., Frantsuzov, P.A., Andreeva, E.Y., Kaysheva, A.L., Zgoda, V.G., Izotov, A.A., Pavlova, T.I., Ziborov, V.S., et al.

(2014b). Atomic force microscopy fishing and mass spectrometry identification of gp120 on immobilized aptamers. Int. J. Nanomed. *9*, 4659–4670.
9. Ivanov, Y.D., Frantsuzov, P.A., Zöllner, A., Medvedeva, N.V., Archakov, A.I., Reinle, W., and Bernhardt, R. (2011). Atomic Force Microscopy Study of Protein-Protein Interactions in the Cytochrome CYP11A1 (P450scc)-Containing Steroid Hydroxylase System. Nanoscale Res. Lett. *6*, 1–13.
10. Ivanov, Y.D., Kaysheva, A.L., Frantsuzov, P.A., Pleshakova, T.O., Krohin, N.V., Izotov, A.A., Shumov, I.D., Uchaikin, V.F., Konev, V.A., Ziborov, V.S., et al. (2015). Detection of hepatitis C virus core protein in serum by atomic force microscopy combined with mass spectrometry. Int. J. Nanomed. *10*, 1597–1608.
11. Ivanov, Y.D., Pleshakova, T., Malsagova, K., Kozlov, A., Kaysheva, A., Kopylov, A., Izotov, A., Andreeva, E., Kanashenko, S., Usanov, S., et al. (2014a). Highly sensitive protein detection by combination of atomic force microscopy fishing with charge generation and mass spectrometry analysis. FEBS J. *281*, 4705–4717.
12. Ivanov, Y.D., Pleshakova, T.O., Kozlov, A.F., Malsagova, K.A., Krohin, N.V., Shumyantseva, V.V., Shumov, I.D., Popov, V.P., Naumova, O.V., Fomin, B.I., et al. (2012a). SOI nanowire for the high-sensitive detection of HBsAg and α-fetoprotein. Lab Chip Miniaturisation Chem. Biol. *12*, 5104–5111.
13. Ivanov, Y.D., Pleshakova, T.O., Malsagova, K.A., Kozlov, A.F., Kaysheva, A.L., Shumov, I.D., Galiullin, R.A., Kurbatov, L.K., Popov, V.P., Naumova, O.V., et al. (2018). Detection of marker miRNAs in plasma using SOI-NW biosensor. Sensors and Actuators B: Chemical *261*, 566–571.
14. Kaysheva A.L., Pleshakova T.O., Malsagova K.A., Chingin K., Matiur Rahman, Pronichev A.N., Nikitaev V.G., Ivanov E.O., Vasilyak L.M., Ziborov V.S., Ivanova N.D., Valueva A.A., Ivanov Yu.D., AFM-MS for Protein Analysis of Plasma Samples of Patients with Ovarian Cancer, Bulletin of the Lebedev Physics Institute, 2019, 46(8), 267-27
15. Kaysheva A.L., Stepanov A.A., Kopylov A.T., Butkova T.V., Pleshakova T., Ryabtsev V.V., Iourov I.Yu., Vorsanova S.G., Ivanov Yu.D., Pilot data of serum proteins from children with autism spectrum disorders, Data in Brief, 2019, 27, 1045581
16. Kaysheva A.L., Frantsuzov P.A., Kopylov A.T., Pleshakova T.O., Stepanov A.A., Malsagova K.A., Archakov A.I., Ivanov Y.D., Mass Spectrometric Identification of Proteins Enhanced by the Atomic Force Microscopy Immobilization Surface, International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(1), 431
17. Kiseleva O., Zgoda V., Naryzhny S., Poverennaya E., Empowering Shotgun Mass Spectrometry with 2DE: A HepG2 Study, International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(11), 3813
18. Kopylov AT, Zgoda VG, Lisitsa A V, Archakov AI. Combined use of irreversible binding and MRM technology for low- and ultralow copy-number protein detection and quantitation. Proteomics 2013 Mar;13 (5):727–42.
19. Kopylov A.T., Kaysheva A.L., Papysheva O., Gribova I., Kotaysch G., Kharitonova L., Mayatskaya T., Krasheninnikova A., Morozov S.G., Association of Proteins Modulating Immune Response and Insulin Clearance During Gestation with

Antenatal Complications in Patients with Gestational or Type 2 Diabetes Mellitus, Cells, 2020, 9(4), E1032
20. Lisitsa A, Moshkovskii S, Chernobrovkin A, Ponomarenko E, Archakov A. Profiling proteoforms: Promising follow-up of proteomics for biomarker discovery. Expert Rev. Proteomics 2014 Feb;11 (1):121–129.
21. Lisitsa AV, Ponomarenko EA, Kiseleva OI, Poverennaya E V, Alex, Archakov er I. Molar Concentration Welcomes Avogadro in Postgenomic Analytics. Biochem. Anal. Biochem. 2015;4 (s2)
22. Lokhov P.G., Balashova E.E., Trifonova O.P., Maslov D.L., Ponomarenko E.A., Archakov A.I., Mass Spectrometry-Based Metabolomics Analysis of Obese Patients` Blood Plasma, International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(2), 568
23. Lokhov P.G., Maslov D.L., Lichtenberg S., Trifonova O.P., Balashova E.E., Holistic Metabolomic Laboratory-Developed Test (LDT): Development and Use for the Diagnosis of Early-Stage Parkinson's Disease, Metabolites, 2021, 11(1), 14
24. Malsagova K.A., Ivanov Y.D., Pleshakova T.O., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Kozlov A.F., Archakov A.I., Popov V.P., Fomin B.I., Latyshev A.V., A SOI-nanowire biosensor for the multiple detection of D-NFATc1 protein in the serum, Analytical Methods, 2015, 7(19), 8078-8085
25. Malsagova K.A., Pleshakova T.O., Galiullin R.A., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Ilnitskii M.A., Popov V.P., Glukhov A.V., Archakov A.I., Ivanov Yu.D., Ultrasensitive nanowire-based detection of HCVcoreAg in the serum using a microwave generator, Analytical Methods, 2018, 10(1), 2740-2749
26. Malsagova K.A., Pleshakova T.O., Galiullin R.A., Shumov I.D., Kozlov A.F., Romanova T.S., Popov V.P., Glukhov A.V., Konev V.A., Archakov A.I., Ivanov Yu.D., Nanowire Aptamer-Sensitized Biosensor Chips with Gas Plasma-Treated Surface for the Detection of Hepatitis C Virus, Coatings, 2020, 10(8), 753
27. Naryzhny S., Volnitskiy A., Kopylov A., Zorina E., Kamyshinsky R., Bairamukov V., Garaeva L., Shlikht A., Shtam T., Proteome of Glioblastoma-Derived Exosomes as a Source of Biomarkers, Biomedicines, 2020, 8(7), 216
28. Novikova S., Shushkova N., Farafonova T., Tikhonova O., Kamyshinsky R., Zgoda V., Proteomic Approach for Searching for Universal, Tissue-Specific, and Line-Specific Markers of Extracellular Vesicles in Lung and Colorectal Adenocarcinoma Cell Lines, International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21, 6601
29. Pleshakova, T.O., Kaysheva, A.L., Bayzyanova, J.M., Anashkina, A.S., Uchaikin, V.F., Shumov, I.D., Ziborov, V.S., Konev, V.A., Archakov, A.I., and Ivanov, Y.D. (2017b). Advantages of aptamers as ligands upon protein detection by AFM-based fishing. Anal. Methods *9*, 6049–6060.
30. Pleshakova, T.O., Malsagova, K.A., Kaysheva, A.L., Kopylov, A.T., Tatur, V.Y., Ziborov, V.S., Kanashenko, S.L., Galiullin, R.A., and Ivanov, Y.D. (2017a). Highly sensitive protein detection by biospecific AFM-based fishing with pulsed electrical stimulation. FEBS Open Bio. *7*, 1186–1195.
31. Ponomarenko EA, Kopylov AT, Lisitsa AV, Radko SP, Kiseleva YY, Kurbatov LK, Ptitsyn KG, Tikhonova OV, Moisa AA, Novikova SE, Poverennaya EV, Ilgisonis EV, Filimonov AD, Bogolubova NA, Averchuk VV, Karalkin PA, Vakhrushev IV,

Yarygin KN, Moshkovskii SA, Zgoda VG, Sokolov AS, Mazur AM, Prokhortchouck EB, Skryabin KG, Ilina EN, Kostrjukova ES, Alexeev DG, Tyakht AV, Gorbachev AY, Govorun VM, Archakov AI. Chromosome 18 transcriptoproteome of liver tissue and HepG2 Cells and targeted proteome mapping in depleted plasma: Update 2013. J. Proteome Res. 2014;13 (1):183–90.

32. Ponomarenko EA, Poverennaya E V, Ilgisonis E V, Pyatnitskiy MA, Kopylov AT, Zgoda VG, Lisitsa A V, Archakov AI. The Size of the Human Proteome: The Width and Depth. Int. J. Anal. Chem. 2016;2016:7436849.
33. Poverennaya E V, Kopylov AT, Ponomarenko EA, Ilgisonis E V, Zgoda VG, Tikhonova O V, Novikova SE, Farafonova TE, Kiseleva YY, Radko SP, Vakhrushev I V, Yarygin KN, Moshkovskii SA, Kiseleva OI, Lisitsa A V, Sokolov AS, Mazur AM, Prokhortchouk EB, Skryabin KG, Kostrjukova ES, Tyakht A V, Gorbachev AY, Ilina EN, Govorun VM, Archakov AI. State of the Art of Chromosome 18-Centric HPP in 2016: Transcriptome and Proteome Profiling of Liver Tissue and HepG2 Cells. J. Proteome Res. 2016 Aug;15 (11):4030–4038.
34. Pleshakova T.O., Bukharina N.S., Archakov A.I., Ivanov Yu.D., Atomic Force Microscopy for Protein Detection and Their Physicochemical Characterization, International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(4), 1142
35. Pleshakova T.O., Kaysheva A.L., Shumov I.D., Ziborov V.S., Bayzyanova Ja.M., Konev V.A., Uchaikin V.F., Archakov A.I., Ivanov Yu.D., Detection of Hepatitis C Virus Core Protein in Serum Using Aptamer-Functionalized AFM Chips, Micromachines, 2019, 10(2), 129
36. Radko S., Ptitsyn K., Novikova S., Kiseleva Y., Moysa A., Kurbatov L., Mannanova M., Zgoda V., Ponomarenko E., Lisitsa A., Archakov A., Evaluation of Aptamers as Affnity Reagents for an Enhancement of SRM-Based Detection of Low-Abundance Proteins in Blood Plasma, Biomedicines, 2020, 8(5), 133.
37. Radko S.P., Khmeleva S.A., Kaluzhny D.N., Kechko O.I., Kiseleva Ya.Y., Kozin S.A., Mitkevich V.A., Makarov A.A., The English (H6R) Mutation of the Alzheimer's Disease Amyloid-beta Peptide Modulates Its Zinc-Induced Aggregation, Biomolecules, 2020, 10(6), 961
38. Trifonova O.P., Maslov D.L., Balashova E.E., Lokhov P.G., Evaluation of Dried Blood Spot Sampling for Clinical Metabolomics: Effects of Different Papers and Sample Storage Stability, Metabolites, 2019, 9(11), 277
39. Zgoda VG, Kopylov AT, Tikhonova O V, Moisa AA, Pyndyk N V, Farafonova TE, Novikova SE, Lisitsa A V, Ponomarenko EA, Poverennaya E V, Radko SP, Khmeleva SA, Kurbatov LK, Filimonov AD, Bogolyubova NA, Ilgisonis E V, Chernobrovkin AL, Ivanov AS, Medvedev AE, Mezentsev Y V, Moshkovskii SA, Naryzhny SN, Ilina EN, Kostrjukova ES, Alexeev DG, Tyakht A V, Govorun VM, Archakov AI. Chromosome 18 transcriptome profiling and targeted proteome mapping in depleted plasma, liver tissue and HepG2 cells. J. Proteome Res. 2013 Jan;12 (1):123–34.
40. Иванов Ю.Д., Даничев В.В., Плешакова Т.О., Шумов И.Д., Зиборов В.С., Крохин Н.В., Загуменный М.Н., Устинов В.С., Смирнов Л.П., Широнин А.В., Арчаков А.И., Химический необратимый фишинг низкокопийных белков, Биомедицинская химия, 2014, 60(1), 28-50

КЛЮЧЕВЫЕ ПАРТНЕРЫ

Сеченовский Университет
наук о жизни

МОНИКИ
1775

Психиатрическая клиническая больница №1

ФМБЦ
им. А. И. Бурназяна

ЭНЦ

НМИЦ ОНКОЛОГИИ
им.Н.Н.Блохина

МГМСУ им. П.А. Герцена

ТИП

NT-MDT
Spectrum Instruments

НОВОСИБИРСКИЙ ЗАВОД ПОЛУПРОВОДНИКОВЫХ ПРИБОРОВ ВОСТОК

ОБЪЕДИНЕННЫЙ ИНСТИТУТ ЯДЕРНЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ
НАУКА СБЛИЖАЕТ НАРОДЫ
1956

Наши цели

реализация научного задела в области постгеномных технологий

фундаментальные знания о биохимических процессах на уровне единичных молекул

создание предсказательной диагностики заболеваний на основе свойств единичных молекул

Контакты

УНУ «АВОГАДРО»

рег. номер: 1405855, http://ckp-rf.ru/usu/1405855/

+7(499)2461637

unu@ibmc.msk.ru

заместитель директора ИБМХ

по научной работе

Плешакова Татьяна

http://avo.ibmc.msk.ru