**Выбор подхода нормализации данных метаболомного хромато-масс-спектрометрического профилирования культуры клеток HepG2**

***Захаров С.В.1, Ревельский А.И.1, Киселева О.И.2, Курбатов И.Ю2***

*Студент, 6 курса специалитета*

*1Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова,*

*химический факультет, Москва, Россия*

*2Институт биомедицинской химии имени В.Н. Ореховича, Москва, Россия*

*E-mail: zssvyat35@gmail.com*

Заболевания печени — одна из самых распространённых причин смерти, что делает изучение процессов в клетках печени важной задачей для научного сообщества. Клеточные линии, такие как HepG2, удобны для доклинических исследований противоопухолевых препаратов, изучения цитотоксичности и создания вакцин. Однако проблемы, такие как клеточная гетерогенность [1] и контаминации другими клеточными культурами [2], могут негативно влиять на качественный метаболомный состав образца. Технические факторы также сильно влияют на результаты анализа. Так, например, погрешности подсчёта клеток в счётных камерах, могут достигать 30%.

Для отслеживания таких девиаций необходима качественная нормализация данных. Обычно в метаболомном анализе используется нормализация на полный ионный ток, общее количество белка или двухцепочечной ДНК. Тем не менее, во многих исследованиях методы нормировки зачастую выбираются без объяснения причин, а данные о их эффективности часто противоречивы и не дают однозначных ответов.

Таким образом, целью данной работы является выбор наиболее эффективного метода нормализации полученных данных при метаболомном анализе клеточной линии HepG2 методом ГХ×ГХ-МС для повышения качества этих данных и возможности релевантно проводить сравнение результатов анализа. Для достижения поставленной цели с помощью двумерного газового хроматографа с времяпролётным масс-спектрометром был проведён метаболомный анализ образцов с разным количеством клеток HepG2. Для оценки эффективности экстракции и преципитации белка были протестированы наиболее часто встречающиеся в литературе смеси для экстракции: MeOH:CHCl3:H2O (7:2:1); MeOH:H2O (8:2); ACN:i-PrOH:H2O (3:3:2). Параллельно в тех же образцах, с использованием коммерчески доступных наборов, были количественно определены общий белок и двухцепочечная ДНК из аликвоты и осадка, оставшегося после экстракции метаболитов.

По результатам работы были получены данные по метаболомному составу образца, а также оценена корреляция аннотированных метаболитов с общим количеством белка, ДНК, извлечённых из аликвоты и осадка, и общим ионным током. Было показано, что, несмотря на более длинный протокол анализа ДНК, по сравнению с определением белка, нормализация на ДНК не даёт больших преимуществ с точки зрения корреляции данных. Также было отмечено, что данные, полученные при определении белка и ДНК из клеточного осадка, в среднем лучше коррелируют с метаболомными данными, чем аналогичные данные, полученные при анализе аликвоты, при этом наиболее стабильные резульаты анализа клеточного осадка получались после экстракции смесью MeOH:CHCl3:H2O (7:2:1).

**Литература**

1. Liu Y. et al. Multi-omic measurements of heterogeneity in HeLa cells across laboratories // Nat Biotechnol. 2019. Vol. 37. №. 3. P. 314-322.
2. Rahbari, R. et al. (2009). A novel L1 retrotransposon marker for HeLa cell line identification // BioTechniques. 2009. Vol. 46. № 4. P. 277–284.