

Биолюминесцентный иммуноанализ на основе люциферазы NanoLuc для выявления онкомаркера сурвивина

Научный руководитель – Франк Людмила Алексеевна

Панамарев Никита Сергеевич

Аспирант

Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр Сибирского отделения РАН, Красноярск, Россия

E-mail: panamarev-n@yandex.ru

Сурвивин, также известный как BIRC5, является наименьшим по размеру белком из семейства белков-ингибиторов апоптоза (IAP). Он играет ключевую роль в регуляции митоза и ингибирует апоптоз, блокируя активацию каспаз. Повышенная экспрессия сурвивина наблюдается при многих, если не при всех раковых заболеваниях [1]. Из-за своей роли в онкогенезе, сурвивин представляет собой привлекательную мишень как для терапии, так и для диагностики рака.

Однако, существующие коммерческие иммуно-аналитические наборы для определения концентрации сурвивина в биологических образцах предназначены только для лабораторного использования. Как правило, эти наборы основаны на колориметрической детекции аналита. В рамках данного исследования разработан вариант иммуноанализа сурвивина на основе биолюминесцентной детекции. В качестве репортера использовали люциферазу NLuc(C164S)LCTPSR, представляющую собой генетический вариант искусственной люциферазы NanoLuc с уникальным остатком Cys [2]. NanoLuc (19,1 кДа) произведена в результате нескольких раундов мутагенеза из каталитической субъединицы глубоководной креветки *Oplophorus gracilirostris* (Promega), катализирует окисление субстрата фуримазина, которое сопровождается яркой биолюминесценцией ($\lambda_{\max}=460$ нм).

В качестве биоспецифического модуля использовали поликлональные антитела мыши к сурвивину, полученные и любезно предоставленные к.б.н. А.Л. Матвеевым (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск). Химическим синтезом был получен конъюгат этих молекул, который использовали как метку в модельном твердофазном микроанализе сурвивина (Рис. 1б). Наблюдается линейная зависимость биолюминесценции от концентрации сурвивина в диапазоне 15,6 – 2000 пг/мл. Чувствительность анализа составила 10,56 пг/мл, что близко к таковой у колориметрического, указанной для коммерческого набора (Рис. 1а) – 9,96 пг/мл.

Автор благодарит научного руководителя работы д.б.н Л. А. Франк, а также к.б.н. А.Л. Матвеева (ИХБФМ СО РАН, Новосибирск) за получение поликлональных антител мыши к рекомбинантному сурвивину.

Источники и литература

- 1) Chen, X., Duan, N., Zhang, C., & Zhang, W. Survivin and tumorigenesis: molecular mechanisms and therapeutic strategies // J Cancer. 2016. Vol. 7(3). P. 314–323.
- 2) Krasitskaya, V. V., Efremov, M. K., & Frank, L. A. Luciferase NLuc site-specific conjugation to generate reporters for in vitro assays // Bioconjug Chem. 2023. Vol. 34(7). P. 1282–1289.

Иллюстрации

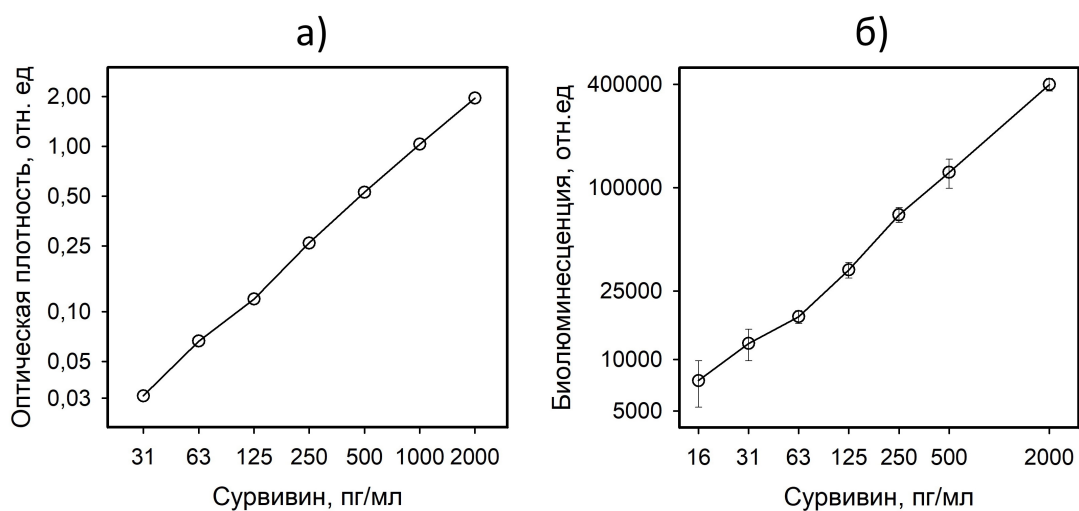


Рис. : 1. Твердофазный иммуноанализ сурвивина сэндвич типа: а) с использованием набора Human Survivin Quantikine ELISA Kit (R&D systems), N=2; б) с использованием билюминесцентной метки на основе NLuc, N=3.