

Программа 6.5.1. Супрамолекулярные комплексы нуклеиновых кислот и ферментов (координатор акад. В. В. Власов)

В Институте биофизики с помощью направленного мутагенеза аминокислот активного центра Ca^{2+} -активируемого фотопротейна обелина получены мутанты W92F-H22E и Y138F, обладающие уникальными характеристиками свечения, высокой активностью и стабильностью. На основе полученных мутантов разработан метод биолюминесцентного иммуноанализа для одновременного определения двух антигенов — фолликулстимулирующего (FSH) и лютеинизирующего (LH) гормонов в сыворотке крови (рис. 19). Эффективное разделение биолюминесцентных сигналов осуществлено с помощью широкополосных оптических фильтров, установленных перед детектором двухканального биолюминометра. Чувствительность одновременного анализа составила 0,57 mIU/мл (FSH) и 1,1 mIU/мл (LH), что не уступает чувствительности специфического радиоизотопного иммуноанализа — 0,5 mIU/мл.

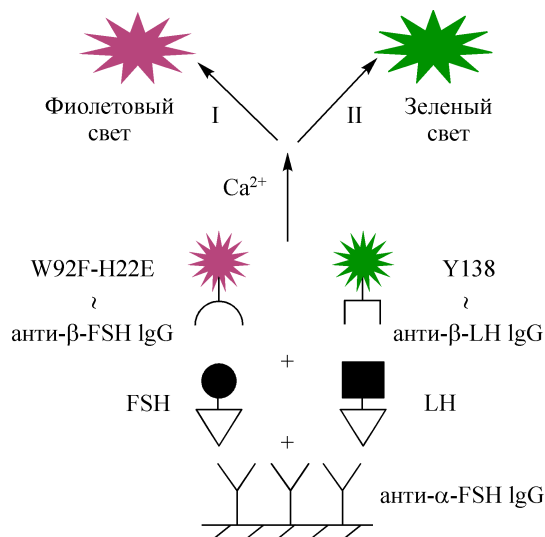


Рис. 19. Схема проведения одновременного биолюминесцентного иммуноанализа фолликулстимулирующего (FSH) и лютеинизирующего (LH) гормонов.

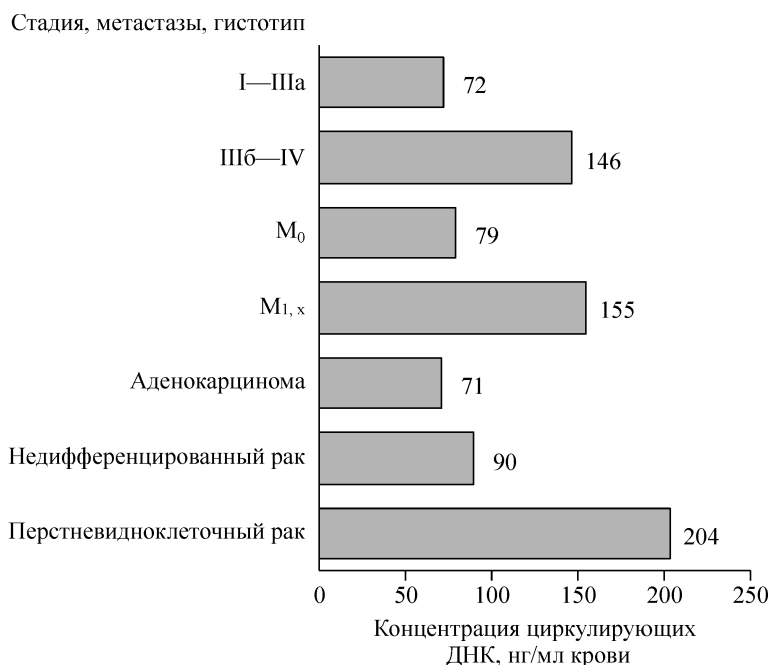


Рис. 20. Зависимость концентрации циркулирующих ДНК крови от распространенности онкологического процесса и гистологического типа опухоли.

Учеными Института химической биологии и фундаментальной медицины показано, что анализ циркулирующих ДНК крови может быть эффективно использован для диагностики больных раком желудка, а также оценки распространенности онкологического процесса и мониторинга эффективности противораковой терапии. Концентрация циркулирующих ДНК в плазме крови больных с неблагоприятным прогнозом (TNM, гистологический тип опухоли) в 2 раза выше, чем в крови больных с благоприятным прогнозом (рис. 20). Детекция aberrantly метилированных генов *p15* и *hMLH1* в

составе суммарных циркулирующих ДНК крови позволяет выявлять больных раком желудка в 2 раза более эффективно, чем анализ общепринятых белковых маркеров.

В этом же Институте впервые показана ДНК-связывающая функция малой субъединицы ключевого фактора процессов метаболизма ДНК — репликативного белка А (RPA) — в комплексе с одноцепочечной ДНК. Методами аффинной модификации и иммуноблоттинга установлены прямые контакты этой субъединицы с ДНК (рис. 21).

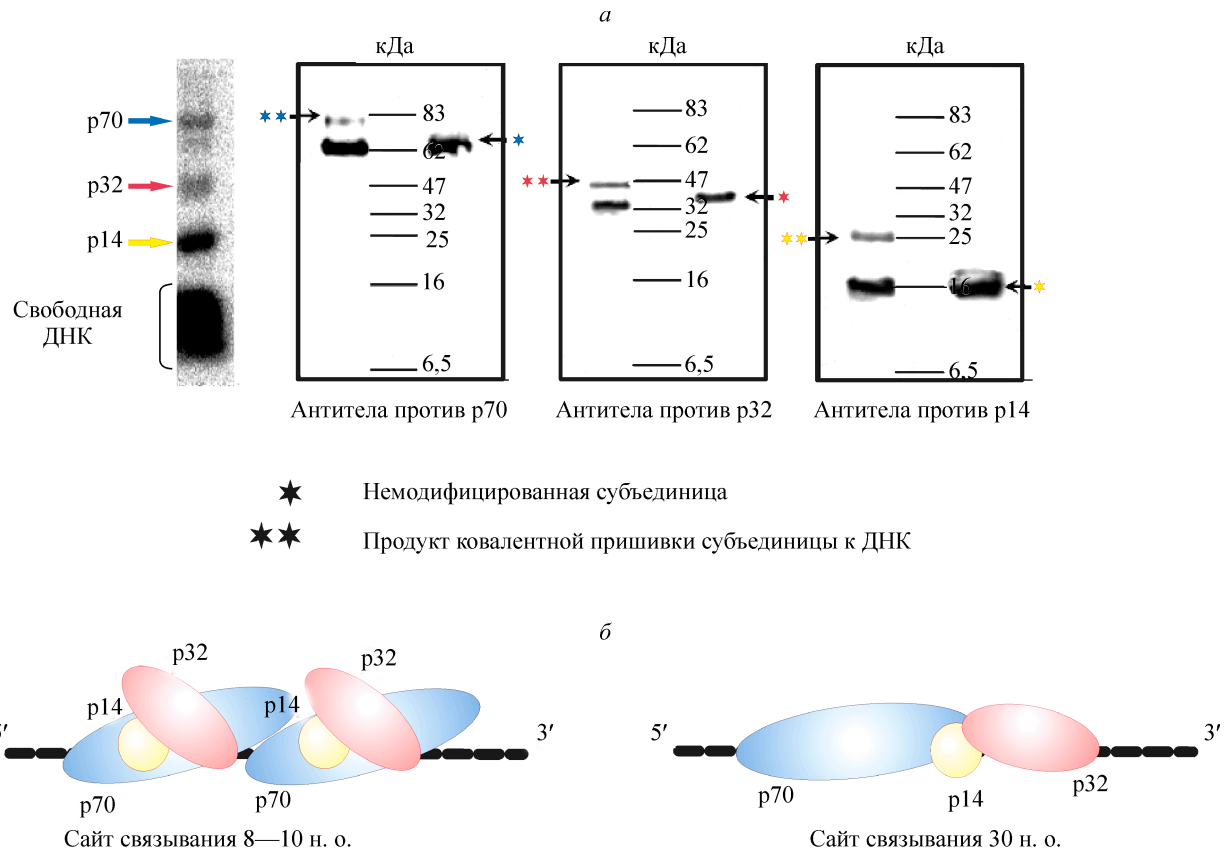


Рис. 21. Идентификация субъединиц репликативного белка А, взаимодействующих с одноцепочечной ДНК, методом иммуноблоттинга (*а*) и расположение субъединиц RPA на одноцепочечной ДНК для разных типов связывания (*б*). Модели демонстрируют наличие прямых контактов с ДНК малой субъединицы p14 гетеротримера в глобулярной (слева) и вытянутой (справа) конформациях.