

Специфичность и чувствительность зеленых редокс-сенсоров нового поколения

Малеева Александра Владимировна

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

E-mail: maleevainform@rambler.ru

Одной из важных характеристик функционирования и жизнедеятельности клеток является редокс-потенциал, так как подавляющее большинство процессов представляют собой окислительно-восстановительные реакции [2]. Отслеживание и мониторинг редокс-потенциала - важная задача исследований и манипуляций в биологии. Для ее решения разрабатываются сенсоры на основе природных белков, сигнализирующие о присутствии в клетке активных форм кислорода (в частности, перекиси водорода). Не менее актуальной и практически важной является задача по определению специфичности и чувствительности вновь появляющихся сенсоров.

HuPer-3 - представитель зеленых HuPer-подобных флуоресцентных белковых сенсоров, которые являются самыми лучшими вариантами для мониторинга перекиси водорода в клетках [1]. Однако недавно появились данные о том, что HuPer3 реагирует и с другими веществами [3].

HuPer_mut - новый представитель зеленых HuPer-подобных флуоресцентных белковых сенсоров, который был разработан на основе HuPer-3 для увеличения скорости взаимодействия и специфичности по отношению к перекиси водорода.

Главной целью исследования являлась оптимизация выделения HuPer-подобных сенсоров и подтверждение того, что HuPer_mut - улучшенный и более оптимальный для использования аналог HuPer-3 по двум наиболее важным параметрам: специфичности по отношению к перекиси водорода и высокой скорости реакции.

Для сравнения кинетических параметров белков HuPer-3 и HuPer_mut были измерены константы скорости второго порядка при фиксированной концентрации сенсоров и варьированной концентрации субстратов. В качестве субстратов использовались перекись водорода (для определения разницы в скоростях взаимодействия) и гипохлорит натрия (для определения специфичности).

На основе полученных результатов было установлено, что HuPer-3 не является строго специфичным сенсором на перекись водорода, так как реагирует и с другими веществами (например, гипохлоритом натрия) (Рис.1). Кроме того HuPer_mut реагирует с перекисью водорода быстрее и специфичнее, чем HuPer-3 (Рис.2). Следовательно, разработанный белок HuPer_mut является усовершенствованным аналогом HuPer-3 и более оптимален для мониторинга перекиси водорода в живых клетках, так как является в 5 раз чувствительнее и в 2 раза специфичнее, чем HuPer-3.

Источники и литература

- 1) Bilan DS, Pase L, Joosen L, Gorokhovatsky AY, Ermakova YG, Gadella TW, Grabher C, Schultz C, Lukyanov S, Belousov VV HuPer-3: a genetically encoded H₂O₂ probe with improved performance for ratiometric and fluorescence lifetime imaging // ACS Chem. Biology, Volume 8, Issue 3, Mart 2013, Pages 535–542

- 2) Lukyanov KA, Belousov VV Genetically encoded fluorescent redox sensors // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects. Volume 1840, Issue 2, February 2014, Pages 745–756
- 3) Weller J, Kizina KM, Can K, Bao G, Müller M Response properties of the genetically encoded optical H₂O₂ sensor HyPer // Free Radic Biol Med., Volume 76, November 2014, Pages 227-41

Слова благодарности

Автор выражает благодарность научному руководителю

Иллюстрации

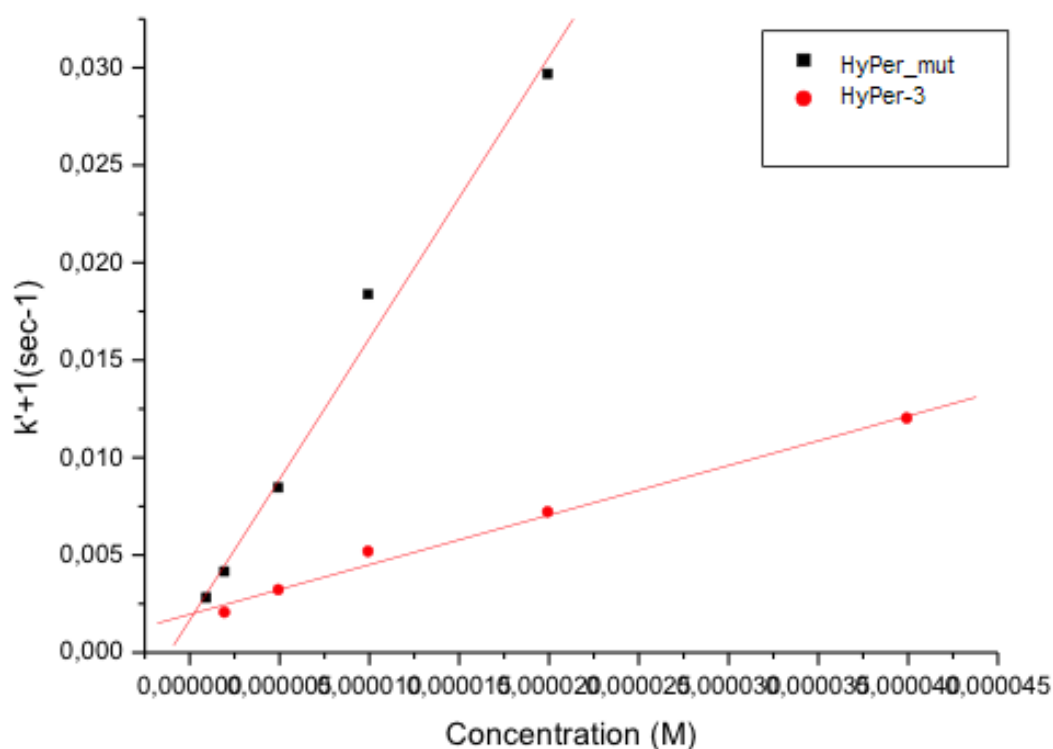


Рис. 1. Отличия реакций HyPer mut и HyPer-3 с перекисью водорода

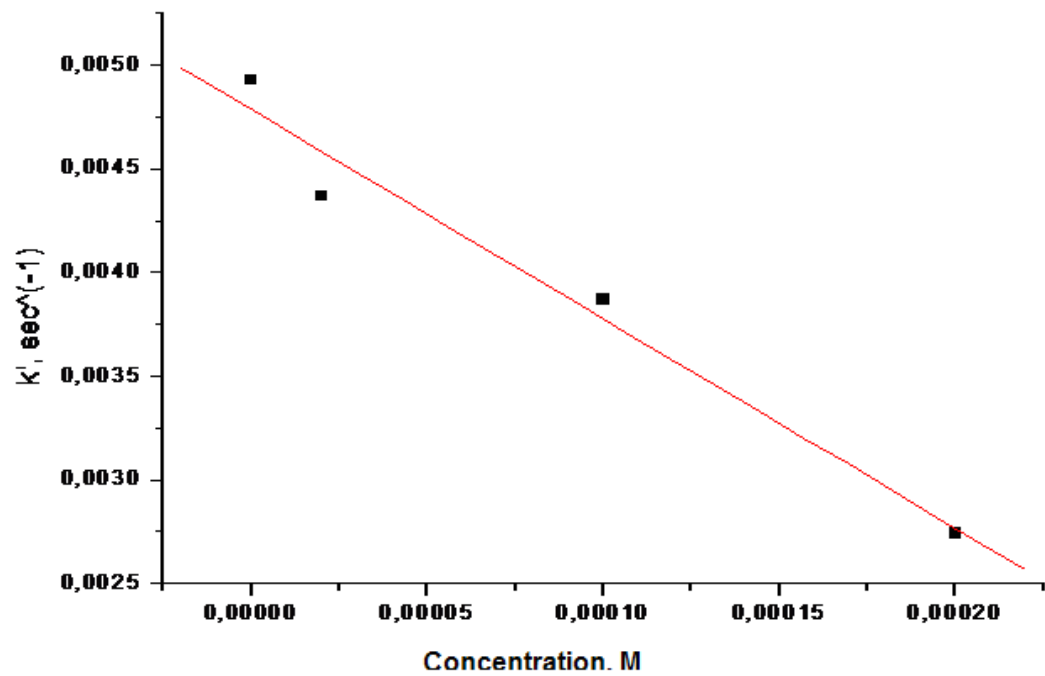


Рис. 2. Зависимость константы скорости от концентрации гипохлорита натрия