Секция «Биохимия»

Изоформы люциферазы из копеподы Metridia longa: свойства и применение

Научный руководитель – Высоцкий Евгений Степанович

Ларионова Марина Дмитриевна
Аспирант
Сибирский федеральный университет, Институт фундаментальной биологии и биотехнологии, Кафедра биофизики, Красноярск, Россия
E-mail: Larionova.marina@inbox.ru

Люциферазы из планктонных рачков копепод активно применяются как инструменты визуализации для медико-диагностических *in vitro* и *in vivo* исследований благодаря высокой биолюминесцентной активности, а также широкому диапазону детекции.

Скрининг кДНК-библиотеки, полученной из морской холодноводной копеподы *Metridia longa,* позволил изолировать ряд генов люциферазных изоформ [1]. Изоформы люциферазы MLuc - естественно секретируемые ферменты массой до 23 кДа, катализирующие реакцию окисления субстрата целентеразина с испусканием голубого света (l_{max}=485 нм).

В настоящей работе с помощью бакуловирусной системы экспрессии были получены препараты новых изоформ люциферазы Metridia. В рамках исследования описаны биохимические свойства люцифераз - определены кинетические параметры, оптимальные условия работы ферментов, исследованы температурная чувствительность и стабильность, динамический диапазон детекции и спектральные свойства [2,3].

На основе изоформы MLuc7 и одноцепочечного мини-антитела, специфичного к белку Е вируса клещевого энцефалита, были сконструированы химерные белки. В модельном твердофазном анализе, а также в иммуноанализе с использованием экстрактов клещей была показана высокая чувствительность меток. Кроме того, изоформы были протестированы как репортеры в *in vivo* анализе, при транзиентной трансфекции клеток HEK293 и клеток меланомы человека.

Проведенная работа позволила охарактеризовать биолюминесцентные ферменты, пригодные для использования в качестве *in vitro* и *in vivo* биолюминесцентных репортеров, дополнив ряд существующих репортерных молекул, применимых для решения различных исследовательских задач.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ, Правительства Красноярского края, Красноярского краевого фонда поддержки научной и научно-технической деятельности в рамках научного проекта № 16-44-242099.

Источники и литература

1) Markova, S.V. Cloning and expression of cDNA for a luciferase from the marine copepod Metridia longa. / S.V. Markova, S. Golz, L.A. Frank, B. Kalthof, E.S. Vysotski // J Biol Chem. – 2004. – 279, №5. – P. 3212–3217.
2) Markova, S.V. The smallest natural high-active luciferase: cloning and characterization of novel 16.5-kDa luciferase from copepod Metridia longa. / S.V. Markova, M.D. Larionova, L.P. Burakova, E.S. Vysotski // BBRC. – 2015; 457, №1. – P. 77–82.
3) Larionova, M.D. The novel extremely psychrophilic luciferase from Metridia longa: properties of a high-purity protein produced in insect cells. / M.D. Larionova, S.V. Markova, E.S. Vysotski // BBRC. – 2017; 483, №1. – P. 772–778.