



Федеральное государственное бюджетное научное
учреждение
«Научно-исследовательский институт биомедицинской
химии имени В.Н. Ореховича»



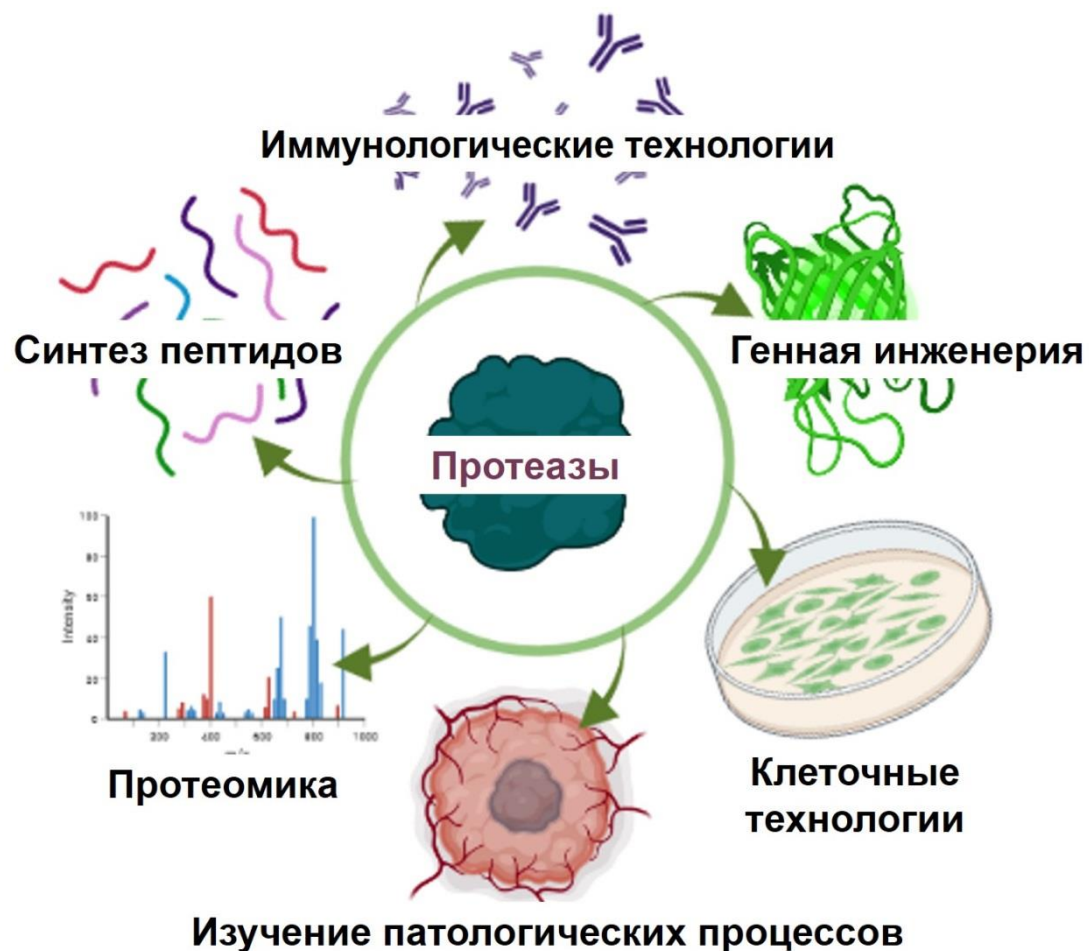
*Филиппова Т.А., Масамрех Р.А., Шумянцева В.В., Фарафонова Т.Е.,
Мошковский С.А., Кузиков А.В.*

МОДИФИКАЦИЯ НАНОЧАСТИЦ ЗОЛОТА ДЛЯ АНАЛИЗА АКТИВНОСТИ МЕДИЦИНСКИ ЗНАЧИМЫХ ПРОТЕАЗ

Москва 2023

Актуальность

- Разработка новых высокоэффективных подходов к определению активности протеаз актуальна в связи с их высокой медицинской значимостью



Подходы к определению активности протеаз:

- Оптические
- Калориметрические
- Масс-спектрометрические
- Иммунологические
- Электрохимические**

Высокая чувствительность

Возможность миниатюризации
аналитического процесса

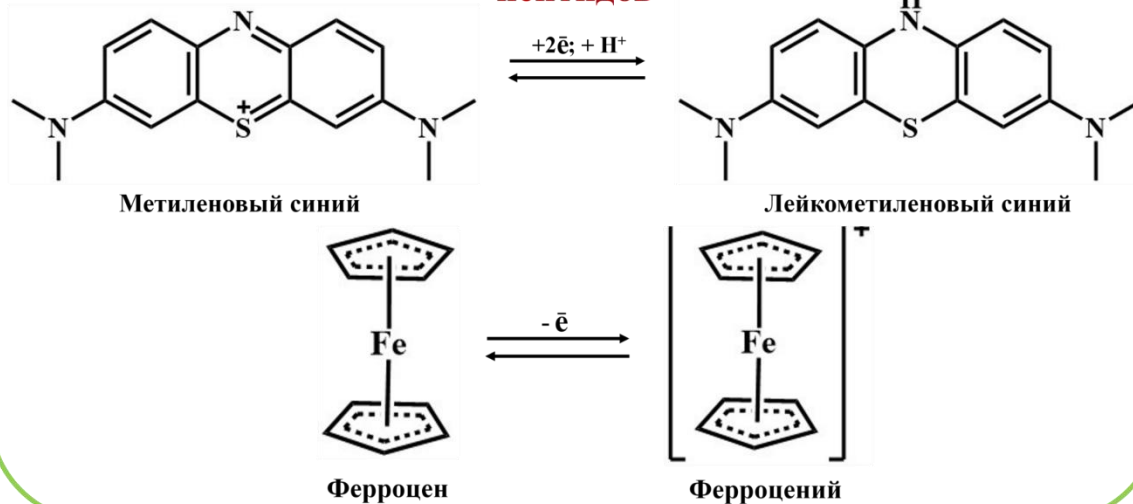
Удобство практического применения

Электрохимические системы для определения активности протеаз

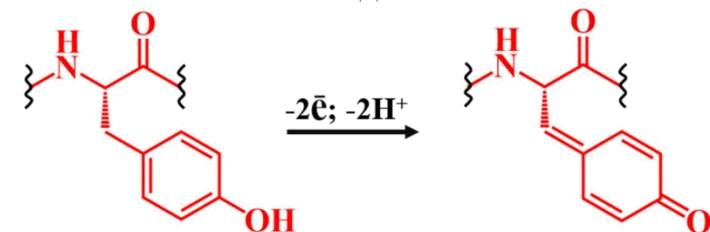


Модельный пептид с электроактивной группой

Редокс-метки, дополнительно встраиваемые в процессе синтеза пептидов

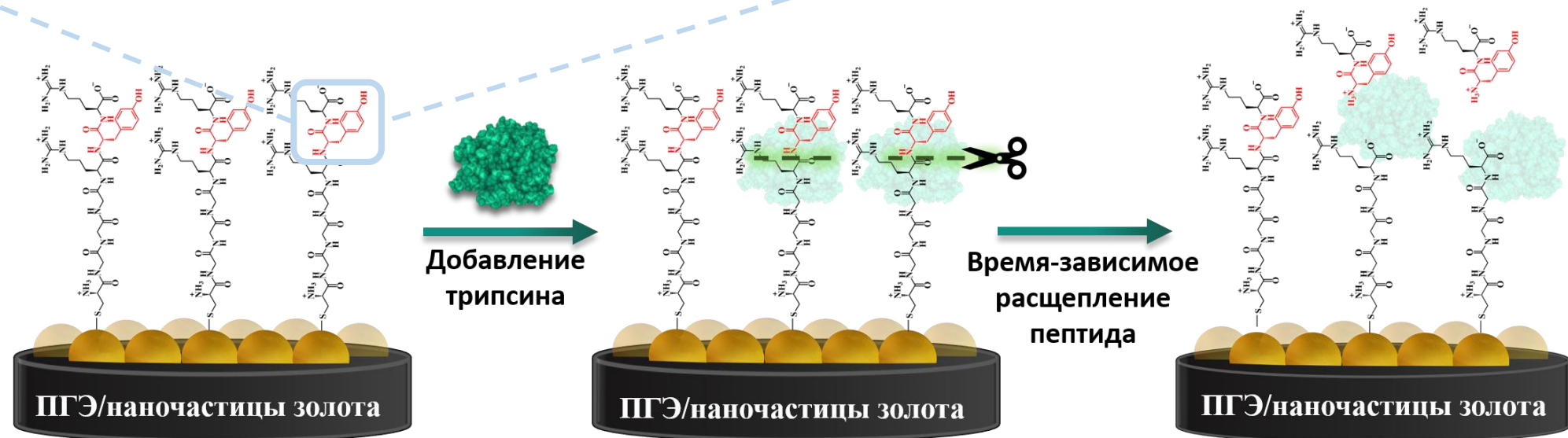
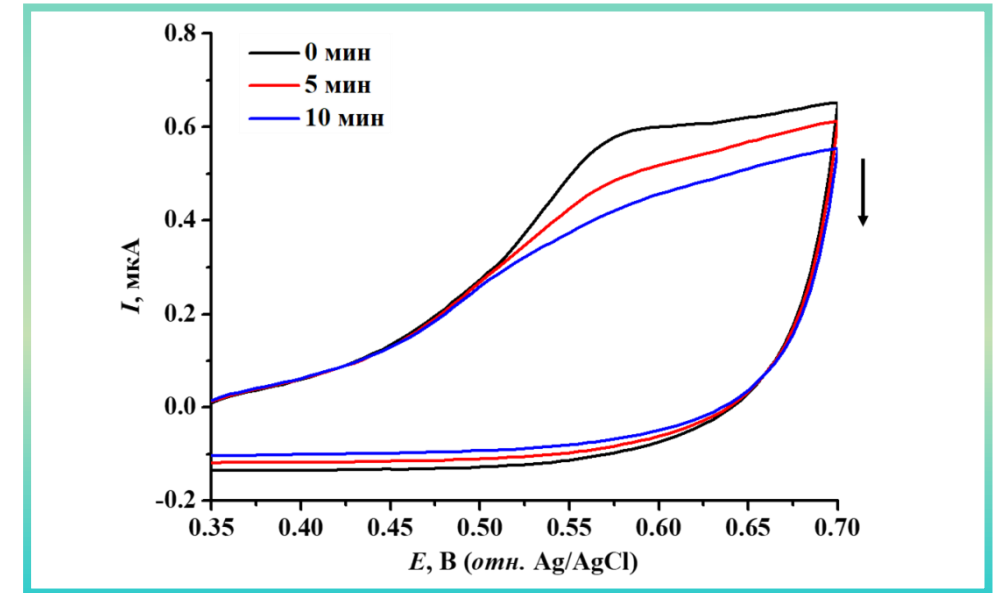
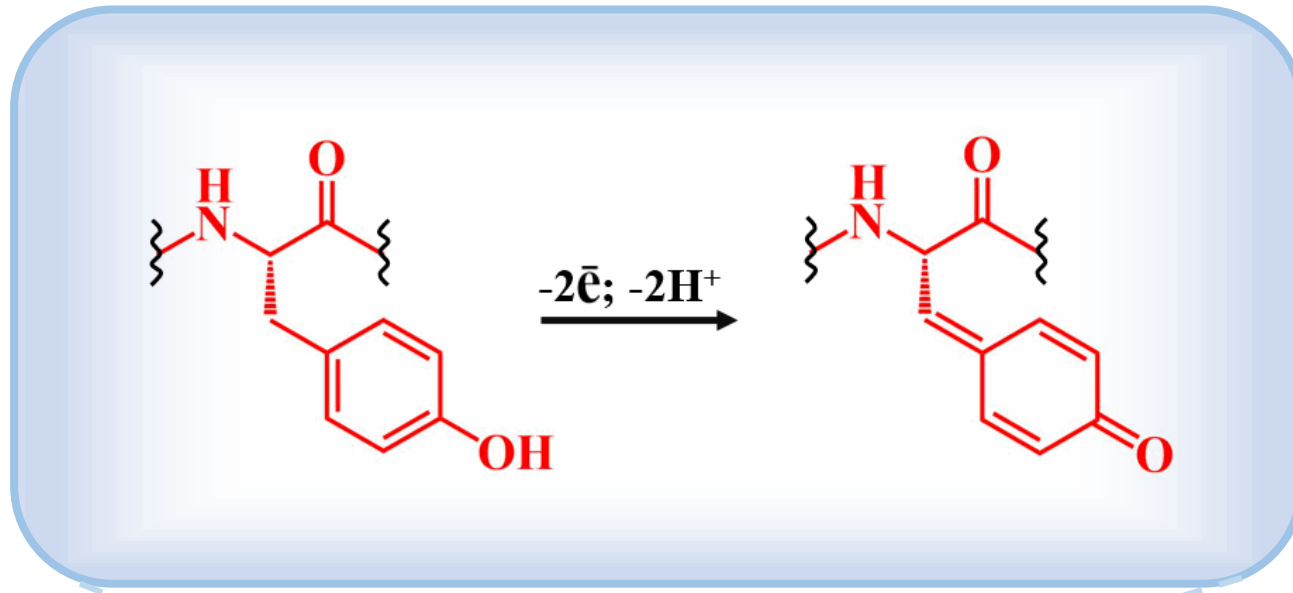


Электроокисляемый остаток аминокислоты в аминокислотной последовательности пептидов

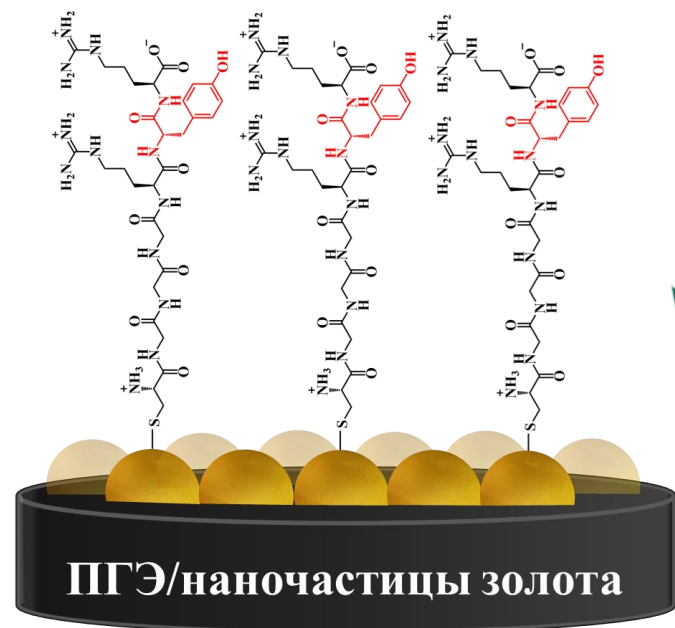
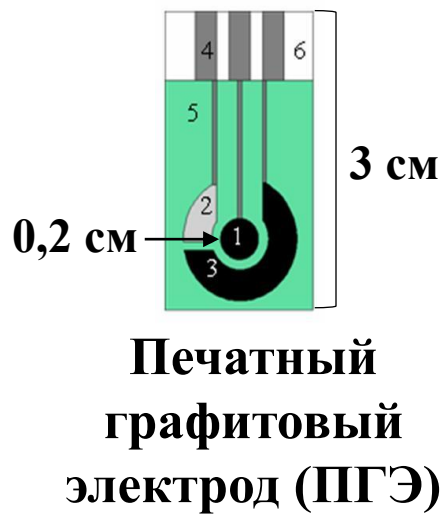
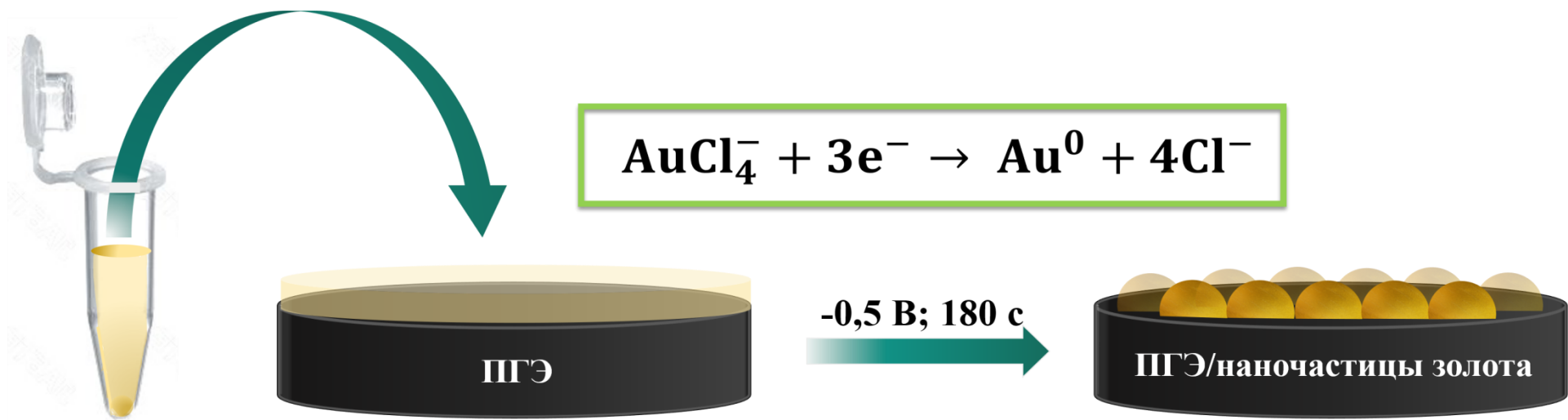


ПРЕДЛОЖЕННЫЙ НАМИ ПОДХОД

Принцип электрохимической системы для определения протеазной активности трипсина на основе предложенного подхода

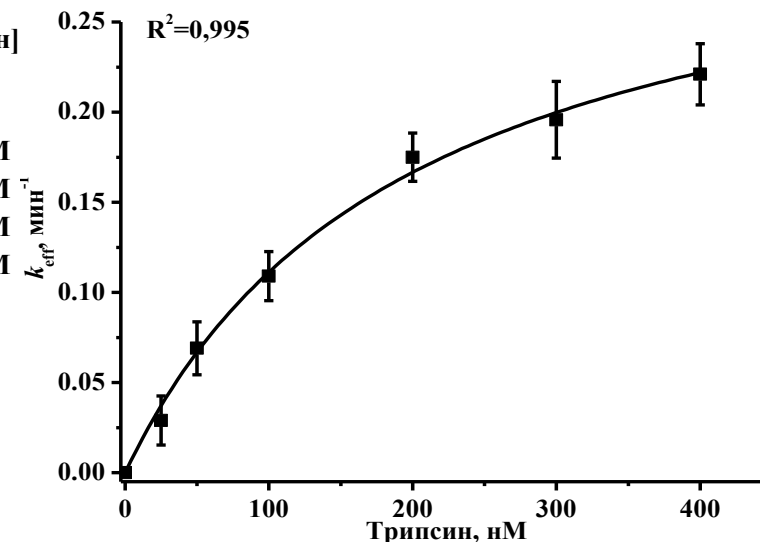
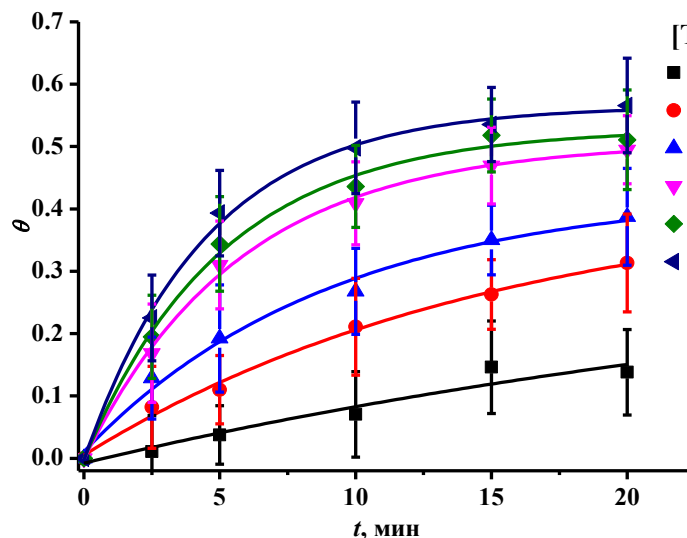
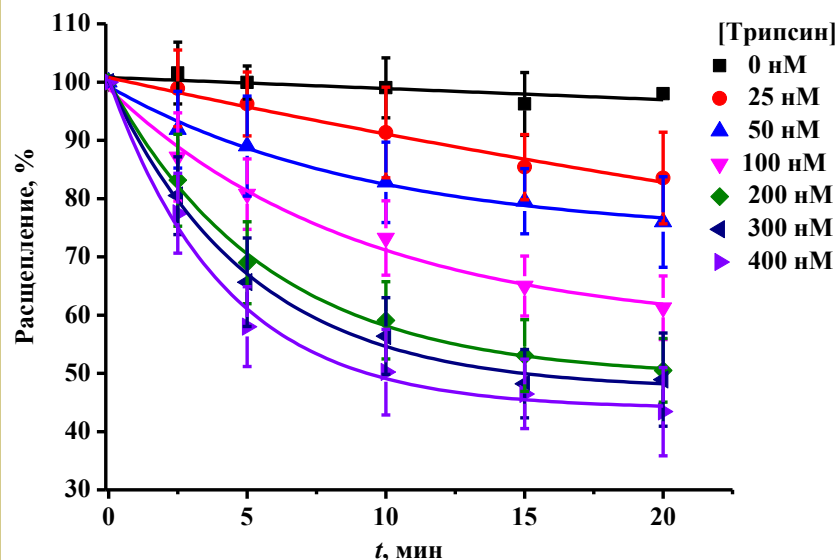


Электрохимические системы для определения активности протеаз



Инкубация с пептидом при 37 °С в течение 2 часов

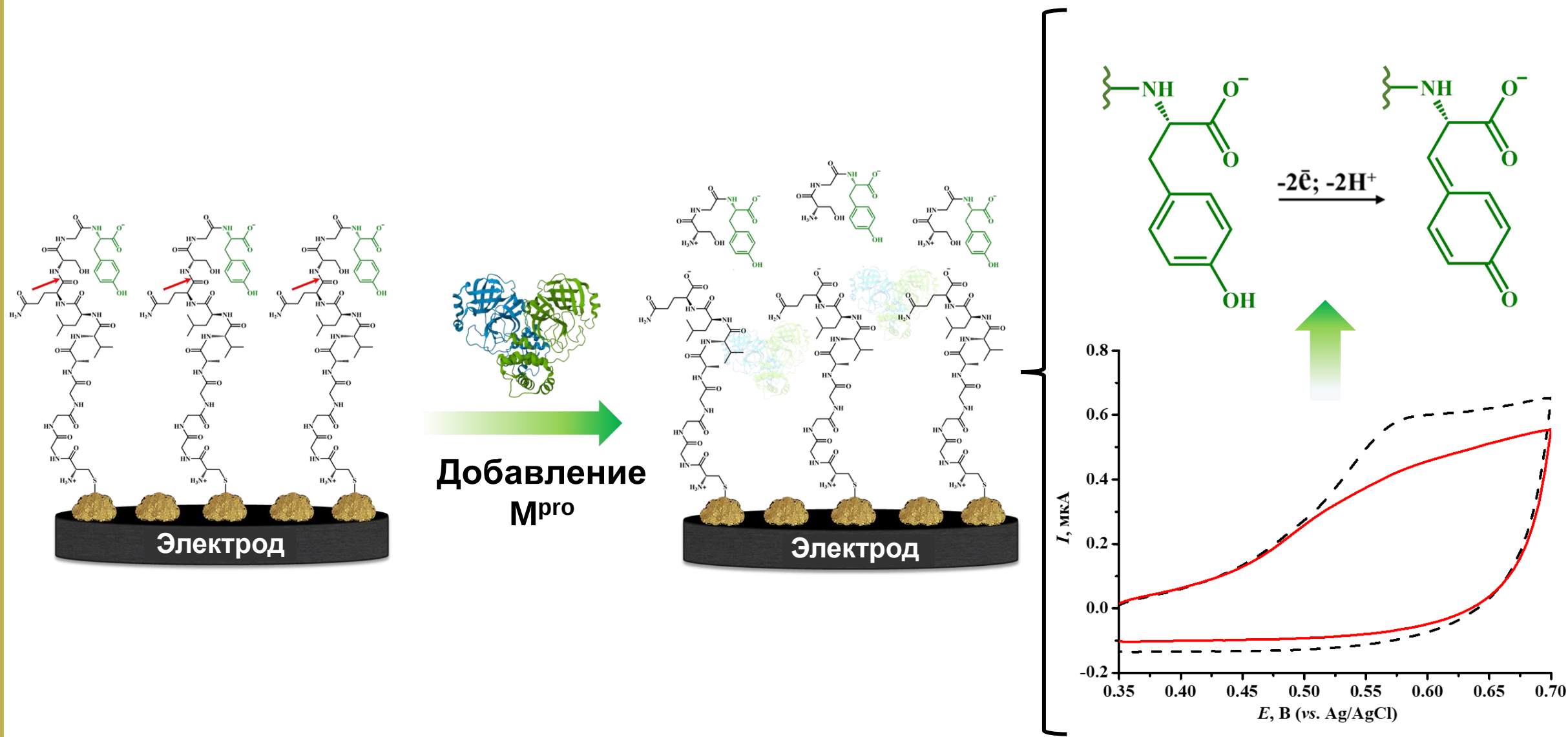
Анализ кинетических параметров трипсина с помощью разработанной электрохимической системы



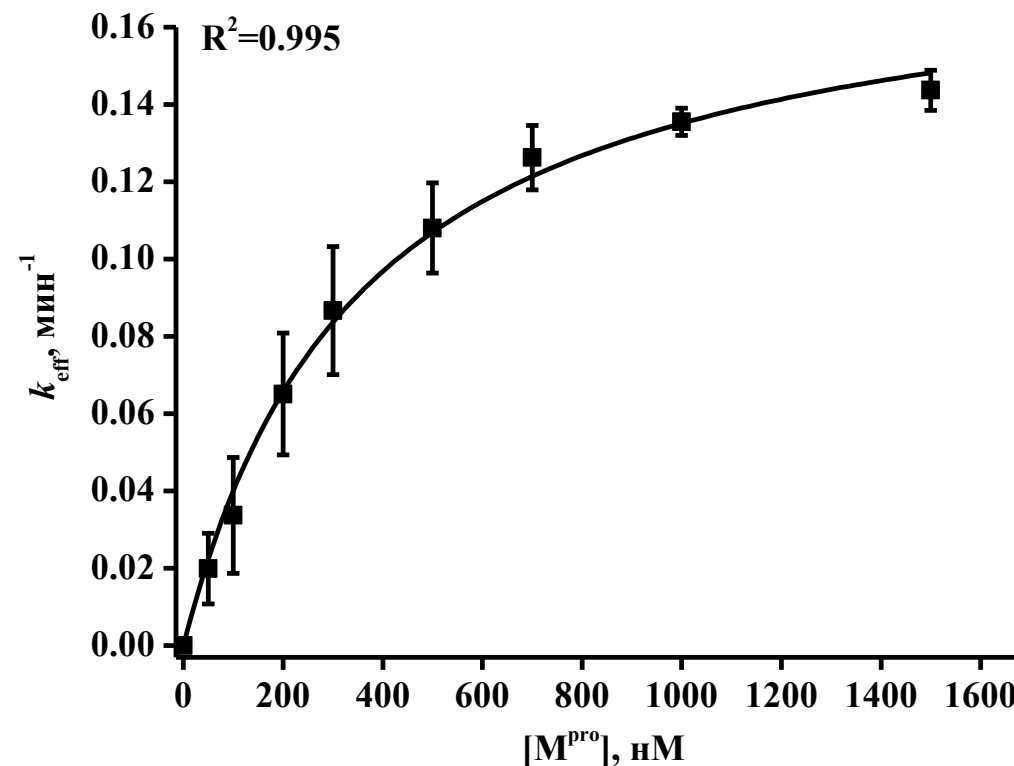
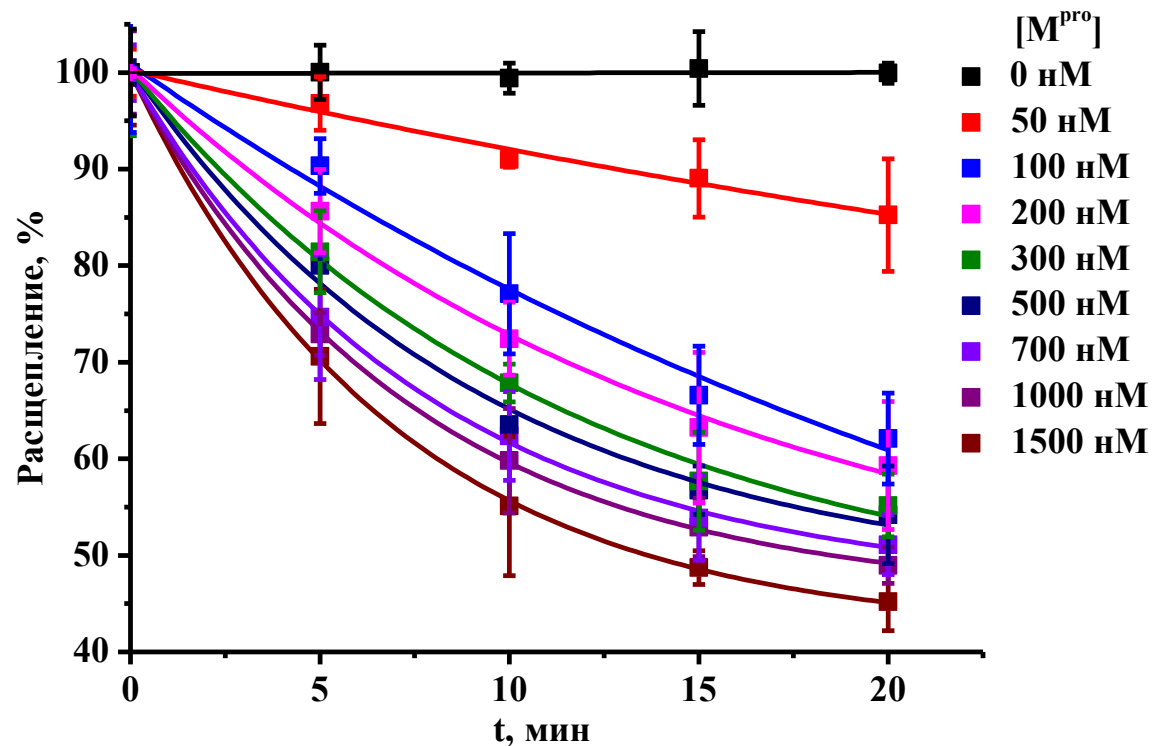
Сравнение кинетических параметров трипсина по отношению к пептидам с различной аминокислотной последовательностью.

Пептид	k_{cat} , мин ⁻¹	K_M , нМ	k_{cat}/K_M , мин ⁻¹ нМ ⁻¹
CGGG R YR	$0,33 \pm 0,01$	198 ± 24	$0,0016$
CGGR P YR	$0,16 \pm 0,01$	329 ± 59	$0,0005$
CGGRE P YR	$0,16 \pm 0,004$	279 ± 17	$0,0006$

Принцип работы системы для определения активности главной протеазы SARS-CoV-2 (M^{pro})



Анализ параметров стационарной кинетики M^{pro} с помощью разработанной электрохимической системы



Параметры стационарной кинетики M^{pro} по отношению к пептиду CGGGAVLQSGY

Пептид	k_{cat} , мин ⁻¹	K_M , нМ	k_{cat}/K_M , мин ⁻¹ нМ ⁻¹
CGGGAVLQSGY	$0,16 \pm 0,01$	358 ± 32	$0,0004$

Заключение

- **Разработанный подход может быть также использован для изучения свойств других медицински значимых протеаз, имеющих диагностическое значение и являющихся молекулярной мишенью для терапии различных заболеваний.**

Работа выполнена в рамках проекта по созданию и развитию научных центров мирового уровня «Цифровой дизайн и персонализированное здравоохранение» при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (соглашение No 075-15-2022-305).

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!