

NUO BALTYMAS-BALTYMAS SĄVEIKŲ TYRIMO IKI BIOŽYMENŲ NUSTATYMO KLINIKINĖSE TERPĖSE

Edita Voitechovič

Nanoinžinerijos skyrius, Fizinių ir technologijos mokslų centras
el. paštas: edita.voitechovic@ftmc.lt

Nuo pačios gyvybės vystymosi pradžios baltymas-baltymas sąveikos buvo pirmųjų mikroorganizmų struktūrinių dalių, signalų perdavimo, funkcionavimo, genetinės medžiagos nuskaitymo ir ištransliavimo pagrindinė grandis. Šiuo metu jos yra tiriamos bei prognozuojamos, aiškinantis (mikro)organizmų funkcionavimo ypatumus. Todėl šiuolaikinis gyvybės mokslas yra neįsivaizduojamas be fundamentinių baltymų tarpusavio sąveikų tyrimų. Taip pat dėka gerai išvystytų baltymų tarpusavio sąveikų tyrimo metodų, įskaitant optinius, elektrocheminius, fluorimetrinius, masių spektroskopijos, bei automatizuotų prietaisų, tyrimai vykdomi daug greičiau ir efektyviau.

Vienas populiariausių optinių metodų, naudojamų baltymas-baltymas sąveikų tyrimui, yra paviršiaus plazmono rezonansas (SPR, angl. *surface plasmon rezonanse*). Ant nanometrų storio auksu modifikuoto stiklo yra imobilizuojamas vienas baltymas, o kitas yra įvedamas į reakcijos celę. Vykstant baltymas-baltymas sąveikai registruojami SPR kampas ir/arba elipsometrinių kampų pokyčiai, prieš ir po baltymų sąveikos. Pagrindinis šio metodo privalumas yra tas, kad baltymų tarpusavio sąveikų tyrimas vyksta realiu laiku nenaudojant papildomų dažančių ar signalą stiprinančių reagentų, kas leidžia nustatyti baltymų jungimosi kinetinius parametrus kiekybiškai. Baltymas-baltymas sąveikų kinetiniai parametrai nusako baltymų sąveikos prigimtį, jos stiprumą ir grįžtamumą, kas ypatingai svarbu tiriant homologinių baltymų funkcijas. Tai pat svarbu atkreipti dėmesį ir į tai, kad dažniausiai baltymas-baltymas sąveikų SPR tyrimai vyksta kontroliuojamoje terpėje – buferiniame tirpale, į kurį pagal poreikį gali būti įvedamos kitos biomolekulės arba mažamolekuliniai metabolitai. Visiškai kita situacija yra realių klinikinių terpių tyrimai.

Poreikis nustatyti specifinius sąveikaujančius baltymus žmogaus (ar gyvūno) skysčiuose, kaip kraujas, jo plazma arba serumas, šlapimas, prakaitas, žaizdų eksudatas ir pan., kilo iš būtinybės diagnozuoti ligas ir/arba ligų sukėlėjus, kuo greičiau ir patikimiau. Šiuo atveju baltymas, atsirandantis kaip ligos požymis, yra biožymuo, o jo nustatymui dažniausiu atveju naudojami antikūnai – imuninės sistemos baltymai, kurie yra imobilizuojami ir naudojami biožymenų gaudymui iš realios terpės. Įprastai žmogaus kūno skysčiai turi savyje didelę koncentraciją kitų baltymų, metabolitų, net nukleorūgščių ir ląstelių, todėl SPR metodu nustatyti biožymuo-antikūnas sąveikas nėra trivalu. Šiuolaikinės SPR technologijos vystomos tobulinant antikūnų imobilizavimo metodikas, realių terpių pristatymo į analizinę zoną pratekančias sistemas, paviršiaus regeneravimo bei registruojamų signalų apdirbimo metodologijas. FTMC Nanoinžinerijos skyriuje kuriamos naujos biožymenų nustatymo imunoanalizės platformos naudojantis vaizdinančiuoju SPR (iSPR, angl. *imaging SPR*) metodu. Šio mikroskopijos metodo privalumas, lyginant su įprastu SPR yra tas, kad visos analizės metu yra stebimas analizinės zonos vaizdas, kas ypatingai svarbu vertinant mikrostruktūrizuoto analizinio paviršiaus stabilumą, galimas nespecifines baltymų asociacijas su paviršiumi. Visumoje tai leidžia sukurti ypatingai selektyvias naujos kartos imunoanalizės platformas, tinkančias kelių baltyminių žymenų nustatymui, ir analizuoti įvairias kompleksines ligas, turinčias įvairių baltyminių žymenų, kurių kompozicija kinta, priklausomai nuo ligos stadijos.