**Из самой маленькой в мире светящейся молекулы сделали тест на клещевой энцефалит**

*Светящийся белок, выделенный из морского рачка Metridia longa, самый маленький из открытых биолюминесцентных ферментов, был впервые использован учеными в тестах на клещевой энцефалит. Одного миллиграмма такого белка может хватить для ста тысяч точных анализов по определению наличия вируса клещевого энцефалита. Результаты исследования опубликованы в журнале* [*International Journal of Molecular Sciences.*](https://www.mdpi.com/1422-0067/21/14/4971/htm)

Биолюминесцентные белки широко используются в качестве светящихся меток в различных диагностических анализах, например, для выявления [сахарного диабета](http://ksc.krasn.ru/news/siberian_scientists_create_alternative_import_system_screening_for_diabetes/), [рассеянного склероза](http://ksc.krasn.ru/news/siberian_scientists_develop_new_way_to_detect_multiple_sclerosis/), [меланомы](http://ksc.krasn.ru/news/svetyashchiysya_belok_pomozhet_vyyavit_risk_melanomy/) и других серьезных заболевании. Несмотря на то, что такие тесты позволяют эффективно диагностировать болезни, ученые не перестают их совершенствовать, стараясь расширить сферы применения, повысить точность и чувствительность.

Ученые Федерального исследовательского центра «Красноярский научный центр СО РАН» вместе с коллегами из Сибирского федерального университета и Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (Новосибирск) использовали самую маленькую в мире светящуюся молекулу, люциферазу морского рачка *Metridia longa*, как метку в тесте на клещевой энцефалит. Люцифераза *Metridia* обладает ярким светом, а небольшой размер фермента обеспечивает наиболее оптимальную наработку белка с использованием технологий рекомбинантного синтеза. Технология заключается в производстве белка с использованием гена, который кодирует интересующий белок, и клеток, которые такой белок производят. В этом исследовании ученые использовали клетки гусеницы.

Эффективность современных иммуноанализов на основе биолюминесцентных молекул зависит от составляющих компонентов. Разработанная метка для тест-системы включает в себя две функциональные части. Первая *–* сконструированная молекула, которая обнаруживает вирус и связывается с ним – антитело. Вторая – светящийся белок,сигнализирующий о произошедшем связывании.

Для создания подобной тест-системы к вирусу клещевого энцефалита исследователи решили использовать [не так давно открытую люциферазу морского рачка *Metridia.*](https://openscience.news/posts/168-krasnoyarskie-biofiziki-otkryli-samuyu-malenkuyu-v-mire-lyutsiferazu)Это самый маленький из известных естественных светящихся белков, который ответственен за яркую биолюминесценцию морских веслоногих ракообразных. Его преимущество заключается в простоте светоизлучающей реакции, требующей лишь одной синтетической молекулы в качестве субстрата и кислорода. При этом для фермента характерна высокая интенсивность свечения.

Точность разработанного теста проверяли при помощи стандартных наборов, которые используются в санэпидемслужбах для определения клещевого энцефалита. Ученые не выявили расхождений между результатами двух типов тестов. Более того, биолюминесцентное тестирование занимало на полчаса меньше времени. Биологи также отмечают, что небольшой размер люциферазы снижает вероятность ошибок при ее производстве и дает возможность модификации для применения в других тестах.

*«Ранее красноярскими биофизиками была разработана метка для определения вируса энцефалита на основе другого биолюминесцентного фермента, люциферазы Renilla. Новая люцифераза по молекулярной массе в два раза меньше, чем описанная ранее метка. Чем меньше репортер, тем легче его произвести и скомбинировать с антителом, в результате меньше факторов будут влиять на свечение молекулы и ее стабильность. Второе достоинство новой метки – она обладает большей биолюминесцентной активностью. Это позволило нам в полтора раза снизить детектируемую концентрацию вируса в пробах, что увеличило точность анализа», —* рассказала соавтор работы **Марина Ларионова**, кандидат биологических наук, научный сотрудники Института биофизики Красноярского научного центра СО РАН.

Ученые отметили, что, согласно расчетам, один миллиграмм созданного гибридного белка может обеспечить более 100 000 измерений. При этом из одного литра культуры генетически модифицированных клеток, в которых нарабатывается светящаяся молекула, исследователи получали от трех до пяти миллиграмм белка. Значит, есть все основания говорить о возможности биотехнологического производства тест-систем на основе люциферазы *Metridia longa*. Однако следует отметить, что использование такого типа тестов потребует дополнительного оснащения существующих диагностических лабораторий.

Исследование поддержано Российским фондом фундаментальных исследований, Правительством Красноярского края и Красноярским краевым научным фондом.