



Дослідження вірусів

Можливості нанодиференціальних мікрокалориметрів та ізотермічних титраційних калориметрів виробництва компанії TA Instruments

Фаріон О.В.,
компанія Intertech Corporation

Коронавірусна хвороба COVID-19 порушила повсякденне життя у всьому світі. Людство зосередило основні ресурси на стримуванні поширення хвороби, лікуванні хворих і розробці вакцин. За останній рік актуальність біофармацевтичних досліджень значно зросла. Найбільш важливим для науковців стало вивчення процесів вірусного патогенезу і структур вірусних білків.

Самозбір вірусних білків та нуклеїнових кислот з утворенням стабільних часток, а також механізми, за допомогою яких віруси зв'язуються з клітиною-хазяїном та проникають у них, є двома ключовими аспектами розуміння механізмів розвитку пандемії та розробки можливих шляхів зупинення її поширення.



Рис. 1. Нанодиференціальний калориметр серії Nano DSC виробництва TA Instruments

Мікрокалориметрія, а саме **нано диференціальна скануюча калориметрія й ізотермічна титраційна калориметрія** – це потужні аналітичні методи, що дозволяють без міток і іммобілізації досліджувати термодинаміку процесів молекулярного зв'язування, визначати біомолекулярну стабільність та ідентифікувати віруси.

Науково-дослідні центри та лабораторії фармацевтичних компаній у всьому світі використовують мікрокалориметри виробництва компанії TA Instruments для вивчення властивостей вірусів і розробки можливих методів боротьби з їхнім поширенням.

Термічну стабільність білків вірусної оболонки найефективніше можна охарактеризувати, використовуючи нанодиференціальні калориметри серії Nano DSC, тоді як фундаментальну інформацію про молекулярні взаємодії, що зумовлюють процеси зв'язування вірусу з клітиною-хазяїном, отримують за допомогою ізотермічних титраційних калориметрів серій Affinity ITC і Nano ITC.

Нанодиференціальні калориметри Nano DSC та Nano DSC Auto розроблені для високочутливого вимірювання тепла, що поглинається або виділяється при нагріванні чи охолодженні розчи-



Рис. 2. Ізотермічний титраційний калориметр серії Affinity ITC виробництва TA Instruments

ну біомолекул. За результатами цих методів можна отримати інформацію про термічну стабільність біомолекули та охарактеризувати її структуру. Нанодиференціальні калориметри можуть бути використані для характеристики як специфічного, так і неспецифічного зв'язування ліганду. Прикладами використання

Nano DSC для вивчення вірусів є роботи з дослідження термічної стабільності аденовірусу [1, 2].

ДСК-профіль також можна використовувати для ідентифікації виду вірусу та його штаму, наприклад, штамів поліомієліту та грипу [3].

Принцип роботи ізотермічних титраційних калориметрів

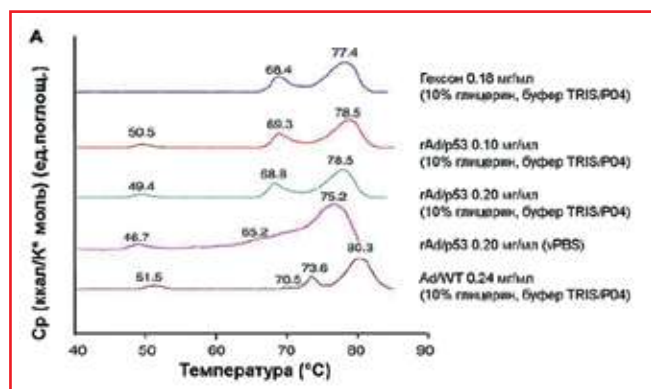


Рис. 3.1. Результати ДСК-сканування окремого капсидного білка (гексон), мутантного вірусу (rAd/p53) у двох концентраціях і в різних буферах і вірусу дикого типу (Ad/WT). Зразки сканували при швидкості 1 °C/хв на приладі Nano DSC [1]

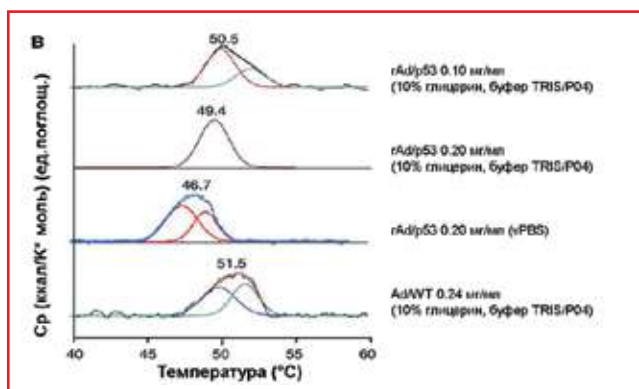


Рис. 3.2. Результати деконволюції сигналу ~50 °C, отриманого на приладі Nano DSC [1]



Рис. 4. Ізотермічний титраційний калориметр серії Nano ITC виробництва компанії TA Instruments

Affinity ITC і Nano ITC полягає у прямому вимірюванні тепла, що виділяється або поглинається під час реакції зв'язування при порційному додаванні титранту до розчину, що титрують. На основі отриманих даних програмне забезпечення приладу визначає константу зв'язування, ентальпію і стехіометрію зв'язування. Також є можливість математичного розрахунку значення енергії Гіббса та ентропії.

Експлуатація Affinity ITC і Nano ITC дозволяє без використання міток і маркерів, які мо-

жуть створювати перешкоди при взаємодії молекул, упродовж одного експерименту отримати повну термодинамічну характеристику процесу зв'язування.

Одним із напрямків використання ізотермічного титраційного калориметра є дослідження вірусу імунодефіциту людини [4].

У разі, коли необхідно досліджувати біомолекули з високою швидкістю зв'язування, ізотермічні титраційні калориметри TA Instruments дозволяють проводити аналіз шляхом не тільки порційного, а й безперервного титрування.

Обсяг досліджень для визначення структури та механізму дії вірусів за допомогою мікрокалориметрів виробництва компанії TA Instruments швидко збільшується. Нанодиференціальні калориметри серії Nano DSC дозволяють отримувати термодинамічний профіль вірусної структури для визначення стабільності вірусних частинок та ідентифікування вірусного штаму. Вірулентність вірусу залежить від здатності вірусу специфічно зв'язуватися зі своєю мішенню й інфікувати клітини. Ізотермічні титраційні калориметри серії Affinity ITC і Nano ITC використовують для характеристики процесів міжмолекулярного зв'язування, що відбуваються між вірусом та клітиною-хазяїном. Новітні запатентовані технології нанодиференціальних калориметрів серії Nano DSC та ізотермічних титраційних калориметрів серії Affinity ITC і Nano ITC потребують мінімальної кількості реагентів, забезпечують найвищу продуктивність, чутливість та відтворюваність і відповідають вимогам науково-дослідних лабораторій, що займаються дослідженнями біомолекул, розробкою фармацевтичних препаратів та вакцин. ■

INTERTECH Corporation

ThermoFisher
SCIENTIFIC



Контактна інформація:

Intertech Corporation

Представник Thermo Fisher Scientific і TA Instruments в Україні
Тел.: (044) 230-23-73,
(050) 347-89-10
info@intertech-corp.com.ua
info@intertech-ukraine.com

Література:

1. Ihnat P. et al. (2006). Comparative thermal stabilities of recombinant adenoviruses and hexon protein. *Biochim. Biophys. Acta* 1726, 138-151.
2. Rexroad J.C., Wiethoff A., Green T., Kierstead M. Scott, Middaugh C.R. (2002). Structural stability of adenovirus type 5. *J. Pharma. Sci.*, 92, 665-678.
3. Krell T. et al. (2005). Characterization of different strains of poliovirus and influenza virus by differential scanning calorimetry. *Biotechnol. Appl. Biochem.* 41, 241-256.
4. Myszkowski D.G. et al. (2000). Energetics of the HIV gp120-CD4 binding reaction. *PNAS* 97, 9026-9031.