

УДК 616-074:57.083.3

Иммунохимическая детекция эпидермального фактора роста при онкопатологии

Н.В. Пивень, А.И. Бураковский, М.Н. Тишкевич, Т.А. Карпенко, А.А. Ястребова

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Immunochemical epidermal growth factor detection in oncopathology

N.V. Piven, A.I. Burakovski, M.N. Tsishkevich, T.A. Karpenka, H.A. Yastrabava

Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences, Minsk, Belarus

Аннотация

В настоящем обзоре приводятся сведения о возможностях практического использования методов иммунохимического анализа (в частности, иммуноферментной и иммунохроматографической его разновидности) для количественного определения концентрации эпидермального фактора роста человека – клинико-диагностического, патогенетического и прогностического маркера развития онкопатологических состояний, ассоциированных с его гиперэкспрессией. Освещены общие данные о строении эпидермального фактора роста и его рецепторов, а также механизме их взаимодействия в процессе фосфорилирования белков – одного из важных моментов канцерогенеза.

Ключевые слова

Имуноферментный анализ, иммунохроматографический анализ, эпидермальный фактор роста, онкопатология, практическое использование.

Summary

This review provides information on the possibilities of immunochemical methods usage (its ELISA and immunochromatographic variants) in quantitative concentration determination of the human epidermal growth factor – an clinical, diagnostic, pathogenetic and prognostic marker of oncopathology associated with its overexpression. The general information on the structure of epidermal growth factor and its receptors and the mechanism of their interaction in the process of phosphorylation of proteins – one of the important moments of carcinogenesis was elucidated.

Keywords

Enzyme immunoassay, immunochromatographic assay, epidermal growth factor, oncopathology, practical usage.

Введение

В последние годы во всех странах мира отмечается рост онкологических заболеваний различных локализаций, которые занимают одну из лидирующих позиций среди причин смертности населения в Республике Беларусь и странах СНГ. Это объясняется и поздним выявлением онкопатологии среди населения, и в связи с несвоевременным поздним обращением пациентов к врачу, и низким уровнем диагностического разрешения используемого оборудования, а также, что немаловажно, низкой эффективностью многих используемых медицинских диагностикумов.

Новые возможности в лечении больных злокачественными заболеваниями в последние годы появились благодаря прогрессу в молекулярной биологии и биотехнологии, основанному на результатах многолетних научных исследований, которыми установлены некоторые из механизмов контроля клеточного деления и клеточной гибели; идентифицированы белки, участвующие в канцерогенезе, что дало дополнительную информацию о поведении опухоли – скорости ее роста, способности к инвазии и метастазированию, устойчивости к химиопрепаратам и т.д.

Экспериментально доказано, что малигнизация клетки происходит вследствие накопления в ее ядерном аппарате различных генных аномалий в результате хромосомных перестроек, амплификаций, точечных мутаций и вирусной интеграции. Накопление мутаций и генетических изменений в процессе канцерогенеза приводит к способности клетки образовывать злокачественную опухоль, а затем в силу высокой генетической изменчивости и селекции, происходящей под давлением со стороны организма, к возникновению и отбору все более и более автономных и агрессивных субклонов. Эти события приводят, в свою очередь, к изменению антигенных свойств клеток, которые выражаются в появлении опухолеспецифических и опухолеассоциированных антигенов [1].

Сегодня в арсенале исследователей и клиницистов имеется огромное количество биологически значимых показателей (биомаркеров), выявление и количественная оценка которых имеют важное клинко-диагностическое, патогенетическое и прогностическое значение, что, в свою очередь, может помочь в прогнозе раннего развития онкопатологии различной локализации, выборе последующей адекватной и своевременной таргетной терапии, а также оценке ее эффективности [2].

При изучении регуляторных механизмов роста и прогрессии онкопатологических состояний человека один из основных акцентов делается на изучение модуляций основных факторов роста и экспрессии их рецепторов. К настоящему времени уже существует более полное понимание механизмов действия многих факторов роста и их рецепторов, а также контролируемых ими разнообразных сигнальных механизмов, связанных с генетическими ошибками сигнальных белков, что вызывает неконтролируемую пролиферацию клеток [3]. Медикаментозное подавление этой сигнальной активности может оказать цитостатическое действие на опухолевые клетки, что позволяет рассматривать факторы роста и их рецепторы как потенциальные мишени как для диагностики опухолей, так и для противоопухолевой терапии.

Эпидермальный фактор роста

За последние годы у исследователей сформировался повышенный интерес к гетерогенной группе полипептидных молекул – ростовым факторам. Факторы роста стимулируют рост и пролиферацию клеток путем активации специфических рецепторов на их поверхности, что

приводит к генерированию рецептором митогенного сигнала. Однако, эти пептиды выполняют и ряд других функций: контролируют подвижность и инвазивность трансформированных клеток, ангиогенез и фенотип. К настоящему времени обнаружено и охарактеризовано большое количество факторов роста, действующих на разные типы клеток, и значительное количество рецепторов, лигандами которых они являются [3].

Наиболее значимые из них: эпидермальный фактор роста (ЭФР), ростовой фактор кератиноцитов, инсулино-подобный ростовой фактор 1, трансформирующий фактор роста, фактор роста гепатоцитов и др. [4]. Рецепторы этих ростовых факторов были обнаружены в опухолях различной локализации, а их клиническое значение изучается в последние годы достаточно активно.

Известно, что тканевой гомеостаз в многоклеточном организме регулируется путем взаимодействия между его различными клетками, в каждой из которых заложена определенная генетическая программа, обуславливающая ее естественную гибель (апоптоз) под влиянием различных стимулов. Полагают, что именно апоптоз является одной из своеобразных альтернатив пролиферации клеток и, следовательно, может противодействовать онкогенезу. Таким образом, рост опухоли может быть обусловлен нарушением баланса между пролиферацией клеток и их программированной гибелью, причем оба эти процесса регулируются цитокинами [5].

Одним из наиболее изученных цитокинов является ЭФР. Обнаружено целое семейство ЭФР и его рецепторов, которые играют важную роль в регуляции жизнедеятельности нормальных и опухолевых клеток. Изучение механизмов их взаимодействия открывает новые возможности и перспективы для применения этих соединений в медицине в связи с их влиянием на пролиферацию и тканевую дифференцировку [6].

ЭФР, наряду с другими онкогенами, супрессорными генами и секреторными белками, является перспективным маркером биологического поведения опухоли, позволяющим диагностировать ранние стадии патологического процесса и индивидуализировать терапию большим со злокачественными новообразованиями.

ЭФР выделен из многих тканей и жидкостей организма у человека и животных. Он присутствует в крови, амниотической жидкости, слюне, молоке, моче, а также обнаружен в слизистых выделениях из дыхательных и пищеварительных путей [7].

ЭФР человека синтезируется в форме раство-

римого мембраносвязанного предшественника, включающего 1207 аминокислотных остатков с молекулярной массой около 140 кДа. Из него образуется зрелая молекула ЭФР, состоящая из 53 аминокислотных остатков и представляющая собой глобулярный белок с молекулярной массой 6,4 кДа. ЭФР является сильным митогеном для клеток эктодермального, мезодермального и эндодермального происхождения. Большая молекула-предшественник является субстратом внеклеточных протеаз, которые делят его цепочку на пептиды различных размеров. Структура и функциональные особенности продуктов протеолиза очень похожи на ЭФР и составляют семейство ЭФР-подобных лигандов [8].

Все члены этого суперсемейства обладают общностью строения, а именно состоят из 50-60 аминокислотных остатков и содержат шесть остатков цистеина (так называемый, ЭФР-мотив), образующих три внутримолекулярные дисульфидные связи, играющие ключевую роль при взаимодействии с рецептором. Интересно, что аналогичные мотивы содержатся в ряде мембранных белков, а также в белках экстрацеллюлярного матрикса, которые участвуют в регуляции пролиферации, миграции и адгезии клеток, а также в белок-белковых взаимодействиях [9].

Взаимодействие эпидермального фактора роста и его рецепторов

Факторы роста, в частности, ЭФР и их рецепторы – молекулы, с которых начинается передача сигналов в клетке.

На поверхности клеток экспрессированы рецепторы к ЭФР и другим ЭФР-подобным лигандам. Экспрессия рецепторов эпидермального фактора роста (РЭФР) физиологически необходима как для функционирования нормальной, так и патологической клетки. Нарушение функций сигнальной системы с участием ЭФР и его рецепторов приводит к тому, что РЭФР действует как онкобелок, а, соответственно, «неисправность» клеточной сигнальной сети приводит к развитию рака и другим пролиферативным заболеваниям [10].

В настоящее время выделяют 4 типа рецепторов: HER1/ErbB1, HER2/ErbB2, HER3/ErbB3 и HER4/ErbB4. Существует около 40-50% сходства между РЭФР, которое варьирует в различных доменах и является наиболее постоянным в тирозинкиназных остатках (около 80%) [11].

Процесс фосфорилирования белков – один из важных моментов канцерогенеза. В нормальных тканях РЭФР через систему сигнальной

трансдукции участвуют во многих процессах жизнедеятельности клетки, таких как пролиферация, ангиогенез и апоптоз. Трансмембранные РЭФР, осуществляющие перевод внешнего сигнала роста во внутриклеточный, состоят из внеклеточного лиганд-связывающего домена, трансмембранного домена и внутриклеточного каталитического или белкового тирозинкиназного домена. Цитоплазматический участок молекулы рецептора обладает тирозинкиназной активностью и ответственен за передачу сигнала. Гидрофобная трансмембранная часть соединяет внутриклеточный киназный и экстрацеллюлярный концы рецептора [12]. Внеклеточный домен РЭФР является лиганд-связывающим участком для различных полипептидных факторов роста: ЭФР, трансформирующего фактора роста- α , амфирегулина, бетацеллюлина, гепарин-связывающего белка, эпирегулина и др. [13].

В результате связывания рецептора с лигандом в соотношении 1:1 (одна молекула лиганда с одной молекулой рецептора), происходит гомо- или гетеродимеризация рецепторов. Формируется новый комплекс, состоящий из 2 молекул лиганда и 2 молекул рецептора. Часто сам фактор роста имеет два рецептор-связывающих центра, выполняя функцию мостика между двумя субъединицами, который стабилизирует образовавшуюся пару. Димеризация экстрацеллюлярных доменов, в свою очередь, стягивает цитоплазматические домены обеих субъединиц, приводя их в тесный контакт. Это позволяет тирозинкиназе одной рецепторной молекулы фосфорилировать киназный домен другой, что вызывает изменение его трехмерной структуры – активацию [14]. Таким образом, связывание лиганда приводит к тому, что обе половинки рецептора фосфорилируют и активируют друг друга (процесс ауто- и трансфосфорилирования). Сразу же после их активации они переходят к фосфорилированию множества близлежащих цитоплазматических субстратных белков, которые затем передают сигнал далее в клетку [15].

Посылаемый ими далее сигнал в клетку способствует ее росту и делению. Сам ЭФР физически не транспортируется в клетку для того, чтобы произошла трансмембранная передача сигнала. Все дальнейшие события передачи сигнала к конечной мишени в ядре осуществляются несмотря на то, что лиганд остается во внеклеточном пространстве.

Гиперэкспрессия ЭФР и его рецепторов характерна для целого ряда опухолей [16]. Так, обнаружено повышение уровня ErbB1 при мел-

коклеточной карциноме легких, которое коррелирует с низким уровнем дифференцировки клеток и быстрым метастазированием опухоли [17]. Около 45% случаев рака молочной железы сопровождается повышением уровня ErbB1 [18]. Гиперэкспрессия рецептора ErbB2 характерна и для большинства карцином, включая карциному молочной железы, аденокарциному легких, а также карциному желудка и матки [19]. Повышение экспрессии рецептора ErbB3 наблюдается при ряде опухолей, таких как аденокарцинома толстой и прямой кишки, что коррелирует с плохим прогнозом [20]. Иммунореактивный ErbB4 был обнаружен при опухолях молочной железы, яичника, поджелудочной железы и мочевого пузыря [21].

Несмотря на успехи фундаментальной онкологии, задача изучения диагностической и прогностической значимости частоты выявления и определения уровней ЭФР и его рецепторов при различных злокачественных новообразованиях человека не решена.

Иммунохимическая детекция ЭФР

Благодаря накопленной информации о молекулярных механизмах опухолевого роста и закономерностях прогрессии опухолей за два последних десятилетия создан и внедрен в клиническую практику целый ряд диагностических подходов для выявления онкозаболеваний. Тем не менее, выбранное направление поиска новых средств диагностики опухолей следует считать перспективным, поскольку расширение арсенала диагностических средств повышает эффективность проводимых лечебно-диагностических мероприятий [22].

Ранняя диагностика онкозаболеваний – основное направление современной онкологии. Сегодня существует необходимость в проведении скрининговых обследований некоторых групп населения с целью своевременной диагностики онкопатологии, что возможно лишь с применением высокочувствительных и специфичных методов, в частности, средств современного иммунохимического анализа (ИХА), сочетающего в своей основе высокую чувствительность и специфичность иммунной реакции «антиген-антитело», экспрессность и простоту исполнения, что выдвигает их в ряд приоритетных методов современной диагностики [23].

К проблеме количественной детекции различных биорегуляторов и биосубстанций с помощью средств ИХА привлечено внимание специалистов различных областей науки (биохи-

миком, иммунобиотехнологов, биологов, медиков и др.). Несмотря на большой объем проводимых в мире исследований по созданию новых методов ИХА биорегуляторных и иммуномодулирующих молекул, до сих пор интерес к этим методам исследования не угасает [24, 25].

На базе лаборатории медицинского микроанализа ИБОХ НАН Беларуси разработаны научные основы технологии новых методов современного ИХА уровня ЭФР в крови и методологии их использования в медицинской практике в качестве количественного клинико-диагностического и патогенетического критерия для различных форм онкопатологии, ассоциированной с гиперэкспрессией ЭФР и его рецептора.

Иммуноферментный метод определения ЭФР

За основу разработанного нами варианта иммуноферментной тест-системы для анализа концентрации ЭФР в сыворотке крови [26] был выбран формат непрямого «сэндвич»-варианта (рис. 1).

Анализируемое соединение, в данном случае ЭФР, находящееся в сыворотке крови пациента, связывается с моноклональными антителами, предварительно иммобилизованными на внутренней поверхности лунок полистиролового планшета для иммуноферментного анализа, с образованием иммунокомплекса. Несвязавшиеся компоненты удаляются путем промывания. На втором этапе к образовавшемуся иммунокомплексу «антиген-антитело» добавляют поликлональные антитела, специфичные к другой антигенной детерминанте ЭФР, которые связываясь с ним, образуют «сэндвич-иммунокомплекс». Затем несвязавшиеся компоненты удаляют промыванием, и после их удаления в систему вводятся меченные пероксидазой хрена антивидовые поликлональные антитела, позволяющие детектировать ранее образовавшийся «сэндвич-комплекс». Индикатором в этом тесте является хромогенный субстрат фермента пероксидазы – 3,3',5,5'-тетраметилбензидин. Добавлением стоп-раствора (4,8% раствор H_2SO_4) останавливается развитие цветной реакции и спектрофотометрически измеряется ее интенсивность, которая прямо пропорциональна концентрации ЭФР в образце. Аналитическая чувствительность анализа составляет 7,7 пг/мл. Время анализа – 6 часов.

Иммунохроматографический метод

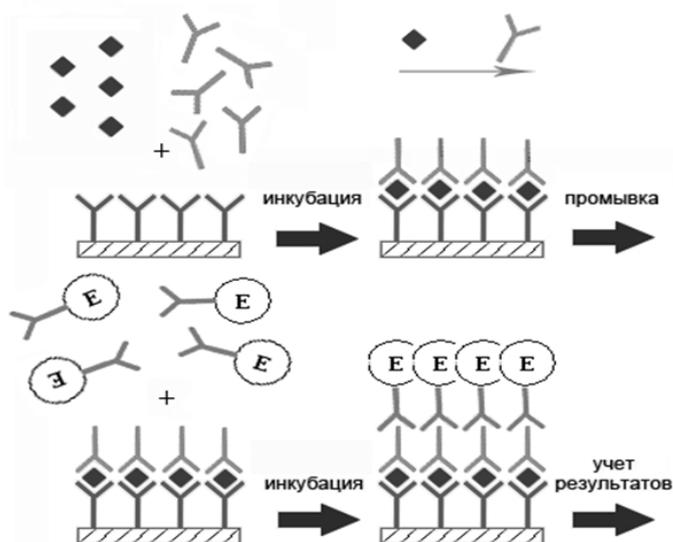


Рис. 1. Принципиальная схема количественного иммуноферментного анализа ЭФР в сыворотке крови

определения ЭФР

Другой модификацией разработанного нами метода ИХА является иммунохроматографическая детекция ЭФР. За основу лабораторного варианта экспрессной иммунохроматографической тест-системы для анализа концентрации ЭФР в сыворотке крови [27] взят формат «сэндвич»-варианта ИХА на хроматографической полоске с заранее нанесенными на нее реагентами для проведения анализа (рис. 2).

На нитроцеллюлозной мембране (рабочая мембрана) иммобилизованы специфические моноклональные антитела к ЭФР (МАТ-ЭФР) – аналитическая зона; и антивидовые антитела, позволяющие контролировать «работоспособность» теста – контрольная зона. На другой участок тест-полоски (мембрана для конъюгата) нанесен конъюгат поликлональных антител к ЭФР (ПАТ-ЭФР) с «меткой» – наночастицами коллоидного золота. При нанесении исследуемого образца на тест-полоску (мембрана для образца) или при погружении сформированной таким образом тест-полоски в пробу сыворотки крови жидкость поднимается под действием капиллярных сил. При этом проба, потенциально содержащая ЭФР, вначале взаимодействует с частицами коллоидного золота, на поверхности которых адсорбированы ПАТ-ЭФР. Затем фронт жидкости преодолевает аналитическую зону, где происходит связывание на участке мембраны с иммобилизованными МАТ-ЭФР. Степень связывания ЭФР с МАТ-ЭФР и, соответственно, интен-

сивность окрашивания мембраны определяются концентрацией ЭФР в пробе. Для проверки качества реагентов и сохранения функциональности тест-системы используется расположенная далее контрольная зона, в которой ПАТ-ЭФР, сорбированные на частицах коллоидного золота, связываются с антивидовыми антителами, иммобилизованными на мембране. Таким образом, формирование на тест-полоске двух ярко окрашенных полос свидетельствует о положительном результате анализа (минимально определяемая концентрация ЭФР – 1 нг/мл), тогда как формирование одной полосы в контрольной зоне означает, что концентрация ЭФР ниже 1 нг/мл. Несвязавшийся конъюгат взаимодействует с антивидовыми антителами в контрольной зоне, образуя окрашенную полосу, что указывает на правильное проведение теста. Неоспоримым преимуществом данного метода является его экспрессность, время анализа – 10-15 минут.

Заключение

Изучение ЭФР и сигнальных путей взаимодействия ЭФР и РЭФР позволит сформировать новые подходы в диагностике ранних форм развития онкопатологии. Разработанные новые экспрессные методы современного ИХА позволяют с высоким уровнем чувствительности и специфичности идентифицировать и проводить изучение одного из патогенетических маркеров онкопатологии – ЭФР. Определение уровня его экспрессии поможет в: выявлении групп риска с повышенной вероятностью возникновения того

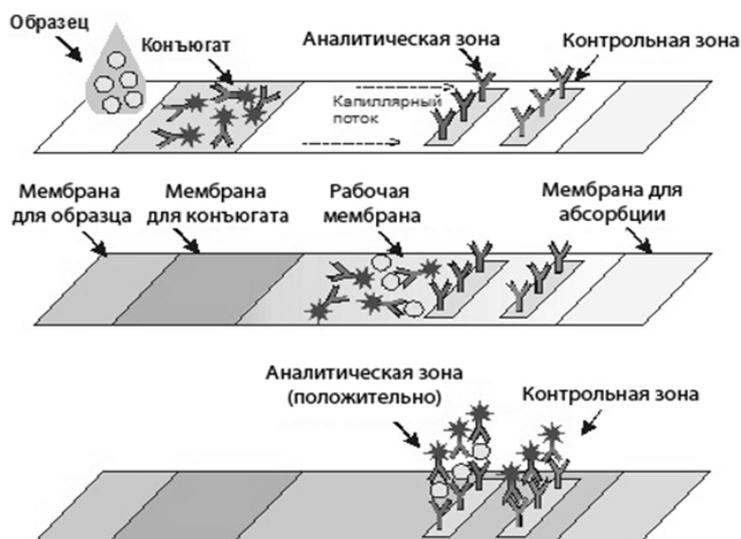


Рис. 2. Принципиальная схема иммунохроматографического количественного определения ЭФР в сыворотке крови на мультимембранной тест-полоске с использованием наночастиц коллоидного золота

или иного онкозаболевания; создании индивидуального подхода по назначению таргетной терапии тем пациентам, для которых это будет наиболее целесообразно; оценке эффективности проводимой терапии; изучении основ онкопатогенеза; осуществлении динамического слежения за развитием заболевания и прогнозировании его исхода.

Использование двух взаимодополняющих современных иммунохимических методов тестирования (иммуноферментного и иммунохроматографического экспресс-определения концентрации ЭФР) может существенно повысить эффективность ранней диагностики онкологических заболеваний различной локализации, ассоциированных с гиперэкспрессией представителей семейства ЭФР (рак молочной железы, легкого, колоректальный рак и др.), что имеет большую научно-практическую и социальную значимость, а также позволяет говорить о перспективности данного направления и необходимости продолжения работ в этой области.

Работа выполнена при поддержке Белорусского Фонда фундаментальных исследований в соответствии с договором № X13-033 от 16 апреля 2013г. Сроки выполнения: 16.04.2013г. – 31.03.2015г.

Литература

1. Ганцев Ш.Х., Хуснутдинов Ш.Х. Патология и морфологическая характеристика опухолевого роста. М.: Медицинское информационное агентство; 2003.
2. Пивень Н.В., Бураковский А.И., Лухверчик Л.Н. Семейство эпидермального фактора роста как диагностический маркер развития онкопатологии. Химия, структура и функ-

ция биомолекул: IV Международная научная конференция. 2012; 169-170.

3. Блохин Д.Ю., Чмутин, Е.Ф. Иванов П.К. Молекулярные мишени для противоопухолевой терапии: факторы роста, ангиогенеза и апоптоза. Российский биотерапевтический журнал. 2011; 10(3): 17-24.

4. Cummins A., Thompson F. Effect of breast milk and

weaning on epithelial growth of the small intestine in humans. *Gut*. 2002; 51: 748-754.

5. Фильченков А.А. Цитокины суперсемейства ЭФР и онкогенез. *Экспериментальная онкология*. 1998; 20(2): 83-108.

6. Pouliot Y., Gauthier S. Milk growth factors as health products: Some technological aspects. *International Dairy Journal*. 2006; 16: 1415-1420.

7. Dehnhard M., Claus R., Munz O. et al. Course of epidermal growth factor (EGF) and insulin-like growth factor I (IGF-I) in mammary secretions of the goat during end-pregnancy and early lactation. *Journal of Veterinary Medicine*. 2000; 47: 533-540.

8. Harris R. Chung E., Coffey R. EGF receptor ligands. *Experimental Cell Research*. 2003; 284: 2-13.

9. Молдогазиева Н.Т., Тереньгев А.А. Альфа-фетопротеин и факторы роста. Структурно-функциональные взаимоотношения и аналогии. *Успехи биологической химии*. 2006; 46: 99-148.

10. Razis A.F.A., Ismail E.N., Hambali Z. et al. The periplasmic expression of recombinant human epidermal growth factor (hEGF) in *Escherichia coli*. *Asia Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*. 2006; 14(2): 41-45.

11. Warren C.M., Landgraf R. Signaling through ERBB receptors: Multiple layers of diversity and control. *Cell. Signal*. 2006; 18: 923-933.

12. Schlessinger J. Ligand-Induced, Receptor-Mediated Dimerization and Activation of EGF Receptor. *Cell*. 2002; 110: 669-672.

13. Citri A., Yarden Y. EGF-ERBB signaling: towards the systems level. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol*. 2006; 7: 505-516.

14. Bublil E.M., Yarden Y. The EGF receptor family: spearheading a merger of signaling and therapeutics. *Curr. Opin. Cell Biol*. 2007; 19: 124-134.

15. Xian C. Roles of epidermal growth factor family in the regulation of postnatal somatic growth. *Endocrine Reviews*. 2007; 28(3): 284-296.

16. Daughaday W.H., Deuel T.F. Tumor secretion of growth factors. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am*. 1991; 20(3): 539-563.

17. Pavelic K., Benjac Z., Pavelic J. et al. Evidence for a role of EGF receptor in the progression of human lung carcinoma. *Anticancer Res*. 1993; 13: 1133-1138.

18. Klijn J.G., Berns P.M., Schmitz P.I. The clinical significance of epidermal growth factor receptor (EGF-R) in human breast cancer: a review on 5232 patients. *Endocr. Rev*. 1992; 13: 3-17.

19. Sirotcovic-Skerlev M., Krizanac S., Kapitanovic S. et al. Expression of c-мис, erbB-2, p53 and nm23-H1 gene product in benign and malignant breast lesions: coexpression and correlation with clinicopathologic parameters. *Exp. Mol. Pathol*. 2005; 79(1): 42-50.

20. Kapitanovic S., Radosevic S., Slade N. et al. Expression of erbB-3 protein in colorectal adenocarcinoma: correlation with poor survival. *J. Cancer Res. Clin. Oncol*. 2000; 126(4): 205-211.

21. Wechselberger C., Bianco C., Strizzi L. et al. Modulation of TGF-beta signaling by EGF-CFC proteins. *Exp. Cell Res*. 2005; 310(2): 249-255.

22. Пивень Н.В., Бураковский А.И. Современные модификации иммунохимических диагностикумов: экспресс-методы. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2012; 3: 6-12.

23. Пивень Н.В. Иммунохимический анализ: научные основы, тенденции развития и возможности практического использования. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2007; 2: 6-22.

24. Пивень Н.В., Бураковский А.И. Методы иммунохимического анализа с использованием меченых реагентов. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2012; 1: 93-102.

25. Современные проблемы биохимии. Методы исследований: учеб. пособие / Е. В. Барковский [и др.]; под ред. проф. А. А. Чиркина // Пивень Н.В. Современный иммунохимический анализ: принципиальные основы, разновидности и возможности практического использования. Минск: Выш. шк., 2013; гл. 15; 371-404.

26. Пивень Н.В., Бураковский А.И., Лухверчик Л.Н. и соавт. Иммунохимическая детекция эпидермального фактора роста – клинико-диагностического и патогенетического онкомаркера. VII Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития». 2013; 185-186.

27. Пивень Н.В., Бызова Н.А., Лухверчик Л.Н. и соавт. Разработка иммунохроматографической тест-системы для детекции эпидермального фактора роста человека. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2013; 49(6): 606-612.

Сведения об авторах:

Пивень Надежда Викторовна – руководитель лаборатории медицинского микроанализа, д.м.н., Лауреат Государственной Премии, профессор кафедры иммунологии Международного государственного экологического университета им. А.Д. Сахарова.

220141, Минск, ул. Купревича, 5/2.

тел. (375 17) 2637273

E-mail: piven@iboch.bas-net.by

Поступила 11.09.2013 г.