

DOI: 10.7868/S3034574X26030099
УДК 577.15; 57.083.3

Оригинальная статья

СТАБИЛЬНЫЙ НАБОР РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ОДНОФАЗНОГО БИОЛЮМИНЕСЦЕНТНОГО ИММУНОАНАЛИЗА ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

А.Н. Кудрявцев¹, Л.А. Франк^{1,*}

¹Институт биофизики СО РАН, Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр СО РАН»,
Красноярск, Российская Федерация

* E-mail: lfrank@yandex.ru

Аннотация. Для быстрого тестирования клещей на выявление носителей вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) предложен вариант однофазного биолюминесцентного иммуноанализа конкурентного типа. Он основан на комплементации фрагментов расщепленной люциферазы NanoLuc, которая наблюдается при их сближении в результате образования иммунокомплекса анти-ВКЭ миниантитела и фрагмента капсидного белка Е вируса, генетически слитых с фрагментами люциферазы. При этом восстанавливается субстрат-зависимая биолюминесценция, составляющая 2,4 % полноразмерной NanoLuc. Присутствие ВКЭ-ассоциированных мишеней, конкурирующих за связывание с миниантителом, вызывает разрушение иммунокомплекса и падение биолюминесцентного сигнала. Цель исследования — получение лиофилизированного реагента «все в одном», в состав которого входят гибридные белки и субстрат реакции, для проведения быстрого тестирования образца клеща на носительство ВКЭ. Показана пригодность полученного реагента для выявления ВКЭ после хранения в течение 3 месяцев при 5 °С. Для тестирования достаточно добавить экстракт клеща к лиофилизированному реагенту, при этом отсутствуют стадии промывки, длительного инкубирования, добавления реагентов и пр. В аналитическую систему входят необходимые лиофилизированные образцы положительного и отрицательного контролей.

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита (ВКЭ), комплементация фрагментов люциферазы NanoLuc, биолюминесценция, набор реагентов

Финансирование. Работа выполнена при поддержке государственного бюджета, выделенного на фундаментальные научные исследования в Российской академии наук, проект № FWES-2025-0001.

Соблюдение этических стандартов. Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей и животных в качестве объектов.

Конфликт интересов. Авторы данной работы заявляют, что у них отсутствует конфликт интересов.

Ссылка для цитирования: Кудрявцев А.Н., Франк Л.А. Стабильный набор реагентов для однофазного биолюминесцентного иммуноанализа вируса клещевого энцефалита. *Прикладная биохимия и микробиология / Applied biochemistry and microbiology*. 2026. Т. 62. № 3. С. 450–457.
<https://doi.org/10.7868/S3034574X26030099>

© А. Н. Кудрявцев, Л. А. Франк, 2026

DOI: 10.7868/S3034574X26030099

Original Article

A STABLE REAGENT KIT FOR SINGLE–PHASE BIOLUMINESCENT IMMUNOASSAY OF TICK-BORNE ENCEPHALITIS VIRUS

A.N. Kudryavtsev¹, L.A. Frank^{1,*}

¹ *Institute of Biophysics, Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”, Krasnoyarsk, Russian Federation*

*E-mail: lfrank@yandex.ru

Abstract. A single-phase competitive bioluminescence immunoassay is proposed for rapid testing of ticks for tick-borne encephalitis virus (TBEV) carriers. It is based on the complementation of split NanoLuc luciferase, forced by the formation of biospecific complexes of genetically fused anti-TBEV miniantibody and an immunogenic fragment of the viral capsid protein E. The substrate (furimazine)-dependent bioluminescence of the complex is 2.5 % that of the full-length NanoLuc and exhibits similar signal kinetics. The presence of TBEV-associated targets competing for binding to the miniantibody causes destruction of the immunocomplex and a decrease in the bioluminescence signal. The study yielded a lyophilized reagent sample containing fusion proteins, the substrate furimazine, and bovine serum albumin as a stabilizer. The reagent’s suitability for detecting TBEV in tick samples after storage for 3 months at 5 °C was demonstrated. Testing is performed simply by adding tick extract to the lyophilized reagent; there are no washing, incubation, reagent addition, or other steps. The analytical system includes lyophilized positive and negative control samples.

Keywords: tick-borne encephalitis virus (TBEV), split NanoLuc complementation, bioluminescence, reagent kit

Funding. The work was supported by the state budget allocated for fundamental scientific research in the Russian Academy of Sciences, project No. FWES-2025-0001.

Ethics declarations. This article does not contain any studies involving humans or animals.

Conflict of interests. The authors of this work declare no conflicts of interest.

Authors contribution. The authors contributed equally to this work.

For Citation: Kudryavtsev A.N., Frank L.A. A stable reagent kit for single–phase bioluminescent immunoassay of tick-borne encephalitis virus. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya / Applied biochemistry and microbiology*. 2026;62(3): 450–457. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S3034574X26030099>

ВВЕДЕНИЕ

Вирус клещевого энцефалита (ВКЭ) является инфекционным агентом тяжелейшего нейрозаболвания — клещевого энцефалита, поражающего центральную нервную систему и отличающегося полиморфизмом клинического течения. Он переносится иксодовыми клещами, ареал распространения которых вся лесная и лесостепная зона умеренного пояса Евразийского континента, в том числе Сибирский регион Российской Федерации, Китай и Монголия. Современная эпидемиологическая ситуация в отношении клещевого энцефалита характеризуется значительным ростом заболеваемости как в России, так и в мире [1, 2]. Экстренная профилактика клещевого энцефалита, применяемая в России для невакцинированных укушенных пациентов, включает введение препарата иммуноглобулина человека против клещевого энцефалита, полученного из сыворотки донорской крови. Однако она сопряжена с определенными биологическими рисками. В среднем носителями ВКЭ являются лишь 5–10% клещей. В связи с этим возникает необходимость раннего выявления вируса в клещах, что могло бы существенно снизить вероятность возможных осложнений, связанных с необоснованной иммунопрофилактикой, и стать основой для своевременного терапевтического вмешательства. Выявление ВКЭ в клещах проводится в санитарно-эпидемиологических лабораториях с помощью колориметрического иммуноанализа, либо ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР). Однако остается актуальным поиск подходов, обеспечивающих быстрый и достоверный анализ, пригодных для применения, в том числе во внелaborаторных условиях.

Недавно [3] был предложен способ выявления ВКЭ однофазным биолюминесцентным иммуноанализом на основе комплементации расщепленных фрагментов искусственной люциферазы NLuc с восстановлением субстрат-зависимой биолюминесценции. Пара гибридных белков, включающих фрагменты расщепленной люциферазы, генетически слитых с одноцепочечным анти-ВКЭ миниантителом sc14D5a или белком prED3 — иммуногенным фрагментом капсидного белка E, образует специфичный иммунокомплекс. Это, в свою очередь, приводит к сближению и комплементации фрагментов люциферазы. Показано, что при близкой кинетике сигнала интегральная биолюминесценция полученного комплекса составляет 2,4 % от таковой исходной полноразмерной люциферазы. Эффективность фуримазин-зависимой реакции «собранный» люциферазы, определенная как отношение k_{cat}/K_M , почти на 2 порядка меньше, чем эффективность реакции полноразмерной люциферазы: $2,9 \times 10^3$ против $4,5 \times 10^5$ $\text{мкМ}^{-1} \text{с}^{-1}$. Домены антигена и антитела эффективно связываются: константа аф-

финности K_{af} для смеси этих гибридов составила $3,77 \times 10^7 \text{ М}^{-1}$, что близко к таковой для исходного рекомбинантного антитела мыши sc14D5a и белка ED3 — $1,6 \times 10^7 \text{ М}^{-1}$ [4], а также гибридного антитела sc14D5a-Rm7 — $2,65 \times 10^7 \text{ М}^{-1}$ с белком E [5].

В присутствии вирус-ассоциированных антигенов, в том числе ВКЭ в экстрактах природных клещей, конкурирующих за связывание с антителом, иммунокомплекс разрушается, что вызывает падение биолюминесцентного сигнала (рис. 1). Показано, что предложенный биолюминесцентный конкурентный иммуноанализ обеспечивает выявление 10^8 вирионов и является клинически значимым. Время анализа составляет менее 1 ч (без пробоподготовки — менее получаса).

Цель настоящего исследования — создание готового к использованию лиофилизированного реагента, содержащего все компоненты аналитической системы, способного обеспечить детекцию ВКЭ при добавлении экстракта клеща. Для достоверного выявления вируса набор реагентов должен включать три аналитических смеси: образцы положительного и отрицательного контролей, а также реактор для анализа клеща. В задачи исследования входили поиск стабилизаторов специфической активности входящих в систему белков при лиофильном высушивании, а также условий, позволяющих предотвратить преждевременное самопроизвольное либо каталитическое окисление субстрата.

МЕТОДИКА

Реактивы

В работе использовали гибридные белки: sc14D5a-NLucS, включающий домен одноцепочечного анти-ВКЭ миниантитела и С-концевой фрагмент (160-171 а.о.) люциферазы NLuc; prED3-NLucL, включающий домен белка prED3 — иммуногенный фрагмент капсидного белка E и N-концевой фрагмент (1-159 а.к) люциферазы NLuc, полученные, как описано в работах [3, 6]. Синтетический фуримазин получен от TargetMol (США), БСА — от Sigma (США).

ВКЭ в клещах выявляли колориметрическим иммуноанализом с использованием «Набора реагентов для иммуноферментного выявления антигена вируса клещевого энцефалита D-1154» («Вектор Бест», Россия) в соответствии с протоколом производителя.

В качестве ВКЭ-ассоциированных антигенов использовали рекомбинантный белок prED3 (третий домен белка E, капсидного белка ВКЭ, иммуногенный фрагмент одноцепочечного антитела sc14D5a), полученный как описано в [7], а также вакцину Клещ-Э-Вак, содержащую инактивированный вирус клещевого энцефалита штамм «Софьин» (рабочий титр не менее 1:128) производства Института полиомиелита и вирусных энцефалитов им. М.П. Чумакова РАМН (Россия).

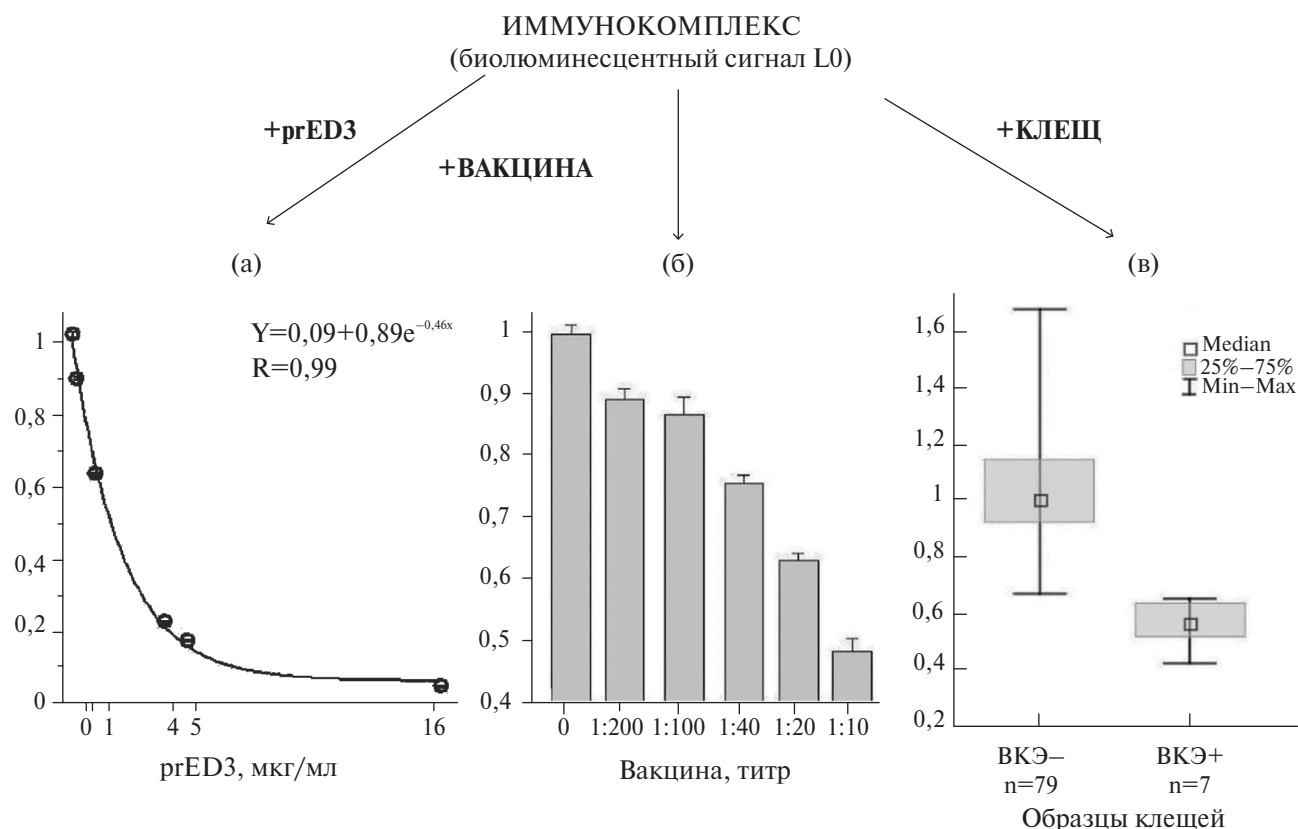


Рис. 1. Однофазный биолюминесцентный конкурентный иммуноанализ ВКЭ-ассоциированных мишеней (по [3], с изменениями). L/L_0 — отношение сигнала от образца к первоначальному сигналу комплекса

Fig. 1. Single-phase bioluminescent competitive immunoassay of TBEV-associated targets (according to [3], with modifications). L/L_0 — the ratio of the signal from the sample to the initial signal of the complex

Другие материалы и растворители квалификации «хч» и «чда» были приобретены у российских производителей.

Гомогенный биолюминесцентный иммуноанализ конкурентного типа ВКЭ-ассоциированных мишеней

В лунки планшета вносили по 150 мкл раствора БСА (1 % в 0,1 М К-На фосфатном буфере, pH 7,0; 0,15 М NaCl, PBS), инкубировали 1 ч при 37 °С и промывали. Далее вносили по 50 мкл эквимольной смеси sc14D5a-NLucS и prED3-NLucL (в PBS, по 0,1 мкМ каждого), а также: а) 50 мкл аликвоты белка prED3 (0, 0,2, 1,0, 4,0, 5,0, 16 мкг/мл в PBS); либо б) 20 мкл аликвоты вакцины Клещ-Е-ВАК, разбавленной PBS в соотношении 1:200, 1:100, 1:40, 1:20, 1:10; либо в) 50 мкл экстракта природных клещей. Смеси инкубировали со встряхиванием 30 мин при комнатной температуре и измеряли биолюминесценцию полученных комплексов при добавлении раствора 100 мкл фуримазина ($0,2 \times 10^{-6}$ М в PBS) с помощью планшетного люминометра Mithras LB 940 (Berthold, Германия). Сигнал интегрировали в течение 5 с. Все измерения были проведены в трех повторах.

При анализе природных клещей сигнал от эквимольной смеси гибридных белков принимали как отрицательный контроль С-, а от той же смеси с prED3 (5 мкг/мл) — как положительный (С+).

Выбор стабилизаторов, входящих в состав реагентов белков

В лунки микропланшета вносили следующие смеси: Ag-NLucL and Ab-NLucS (по 100 мкл/лунку, 100 нМ каждого) в следующих растворах: а) PBS; б) PBS, 0,1 % БСА, в) PBS, содержащий 5 % трегалозы. После чего замораживали при -80 °С и лиофилизировали. Далее в лунки с лиофилизированными растворами а), б), в) добавляли по 100 мкл воды, перемешивали 30 мин и измеряли биолюминесценцию сразу после добавления раствора фуримазина (по 100 мкл, 1 мкМ в PBS).

Получение лиофилизированных смесей, готовых для иммуноанализа ВКЭ, и их характеристика

В лунки микропланшета вносили следующие смеси: prED3-NLucL и sc14D5a-NLucS (по 100 мкл/лунку, 100 нМ каждого в PBS с 0,1 % БСА).

Этот образец далее обозначен контроль минус, «С-». С-, содержащий ргED3 (5 мкг/мл) — это образец контроль плюс, «С+». Далее к смесям добавляли субстраты в различном порядке:

а) образцы смеси С+ и С- вначале замораживали при -80°C , далее в лунки добавляли по 20 мкл 6 мкМ раствора фуримазина (PBS, 0°C), немедленно замораживали и лиофилизировали на установке BenchTop Pro (SP Scientific, США);

б) к образцам С+ и С- добавляли раствор фуримазина (конечная концентрация 1 мкМ), получая С+(f) и С-(f), замораживали при -80°C и лиофилизировали.

Планшеты с лиофилизированными образцами покрывали клейкой пленкой, хранили при 5°C и -20°C и тестировали на восстановление биоспецифической активности белков через определенные промежутки времени. Для этого в лунки с лиофилизированными смесями С+ и С- добавляли по 100 мкл воды, перемешивали 30 мин и измеряли биолюминесценцию сразу после добавления раствора фуримазина (100 мкл, 1 мкМ в PBS) и через 30 мин. В лунки с лиофилизированной смесью С+(f) добавили по 100 мкл воды, а в лунки с С-(f) по 100 мкл либо воды, либо растворы ВКЭ-ассоциированных мишеней (белок рED3, экстракты клещей), перемешивали 5 мин и измеряли биолюминесценцию сразу и еще через 30 мин.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Поиск эффективного стабилизирующего агента

Эксперименты по поиску стабилизирующего агента при лиофильном высушивании для пре-

дотвращения потери специфической активности гибридных белков показали, что добавление в ее раствор 0,1 % БСА обеспечивает практически полную регенерацию биолюминесцентной активности (96,8 %). Без стабилизатора после высушивания восстановилось только 31,3 % исходной активности, а добавление 5 % трегалозы позволило сохранить всего 0,7 %. При сушке всех смесей для однофазного анализа ВКЭ-ассоциированных образцов использовали 0,1 % добавку БСА.

Разработка стабильного набора реагентов для однофазной детекции ВКЭ

При создании однофазной системы, готовой к употреблению при добавлении анализируемого образца, были приготовлены следующие лиофилизированные смеси:

образец бинарной смеси ргED3-NLucL и sc14D5a-NLucS, представляющий собой отрицательный контроль (С-), а также образец этой смеси с фуримазином — С-(f);

образец трехкомпонентной смеси, где присутствует антиген — Ag-NLucL+Ab-NLucS+ргED3, представляющий собой положительный контроль (С+), а также образец этой смеси с фуримазином — С+(f).

Регенерацию белков в С+ и С- после высушивания проверяли при растворении в исходном объеме дистиллированной воды и добавлении субстрата фуримазина. Сигналы регистрировали сразу после добавления субстрата и через 30 мин (рис. 2а). Из рисунка видно, что сигнал от смеси С- почти в 4 раза выше, чем от смеси С+, то есть эти образцы могут служить контрольными

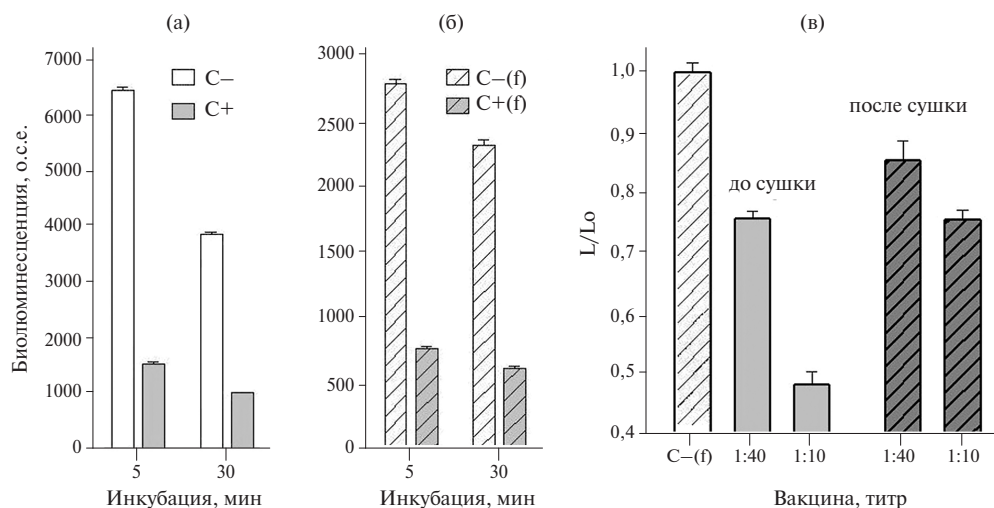


Рис. 2. Биолюминесцентная активность смеси гибридных белков после лиофилизации (а, б); $n=4$. Относительное падение биолюминесцентного сигнала образца С- до и после лиофильного высушивания в присутствии Клещ-Э-Вак вакцины (в); $n=3$. о.с.е. — относительные световые единицы

Fig. 2. Bioluminescent activity of the hybrid protein mixture after lyophilization (a, b); $n=4$. Relative decrease in the bioluminescent signal of sample С- before and after lyophilization in the presence of Kleshch-E-Vak vaccine (c); $n=3$. r.l.u. — relative light units

в разрабатываемой аналитической системе. Обращает на себя внимание длительность биолюминесцентного сигнала, характерного для люциферазы NanoLuc, — через полчаса его интенсивность в обоих образцах снижалась только на 30 %, при этом их соотношение практически не изменилось. Это создает возможность многократной записи сигнала или его накопления при анализе образцов с низкой концентрацией аналита.

Особый интерес представляют образцы С+(f) и С-(f), содержащие одновременно еще и избыток субстрата люциферазы фуримазина (рис. 2б). Смеси готовили из предварительно охлажденных до +5 °С растворов, быстро замораживали и высушивали. Как видно из рисунка, после растворения лиофилизированных с фуримазином контрольных смесей абсолютные значения сигналов уменьшались примерно в 3 раза, однако соотношение сигналов С+(f)/С-(f) равно 3,8, то есть практически не отличалось от такового для смесей, лиофилизированных без субстрата. Моделируя условия анализа, к лиофилизированному раствору С-(f) добавляли образцы вакцины, как одной из ВКЭ-ассоциированных мишеней. Как видно из рис. 2в, добавление вакцины с титром 1:5 наблюдается 20 % падение сигнала, что существенно хуже, чем при в случае использования образца С-(f) до сушки, где добавление вакцины с таким разбавлением вызывает 55 % падение сигнала.

Поиск условий хранения реагентов

Льофилизированные образцы С+(f) и С-(f) хранили при температурах +5 и -20 °С и проверяли регенерацию биолюминесцентного сигнала сразу после высушивания, а также через определенные промежутки времени. Независимо от температуры хранения уже через месяц в образцах биолюминесценция не обнаружена, очевидно в результате каталитического, а также самопроизвольного окисления фуримазина. Чтобы предотвратить его преждевременное окисление, перед лиофилизацией вначале замораживали смесь гибридных белков, а затем охлажденную аликвоту субстрата. Полученный таким образом препарат С-(f) через 3 месяца хранения при -20 °С сохранил 18 %, а через 6 месяцев 9 % биолюминесцентной активности. Соотношение сигналов С+(f)/С-(f) находилось в диапазоне 0,1–0,19. В модельном варианте анализа в качестве ВКЭ-ассоциированной мишени использовали белок ргED3. Было обнаружено, что конкуренция этого белка за связывание с миниантителом существенно ослаблена: ргED3 в концентрации 5 мкг/мл вызывал падение сигнала всего на 30 %, тогда как в свежеприготовленном образце С-(f) это количество вызвало 80%-ное падение сигнала (см. пример на рис. 1а). Вероятно, связывание мишени с антителом гибрида sc14D5a-NLucS, уже находящегося в комплексе с ргED3-NLucL,

затруднено в силу стабильности этого комплекса и стерических препятствий. Чтобы создать равные условия для конкуренции за связывание с миниантителом, необходимо было избежать образования иммунного комплекса до лиофилизации. Обеспечивая минимальный контакт между гибридными белками и субстратом, их растворы замораживали последовательно по очереди, а затем сушили. В лиофилизированном таким образом образце С- через 3 месяца обнаружено 50 и 15 % исходной активности при хранении при -20 °С и +5 °С, соответственно. Соотношение сигналов С+(f)/С-(f) в обоих случаях составило около 0,4 (рис. 3).

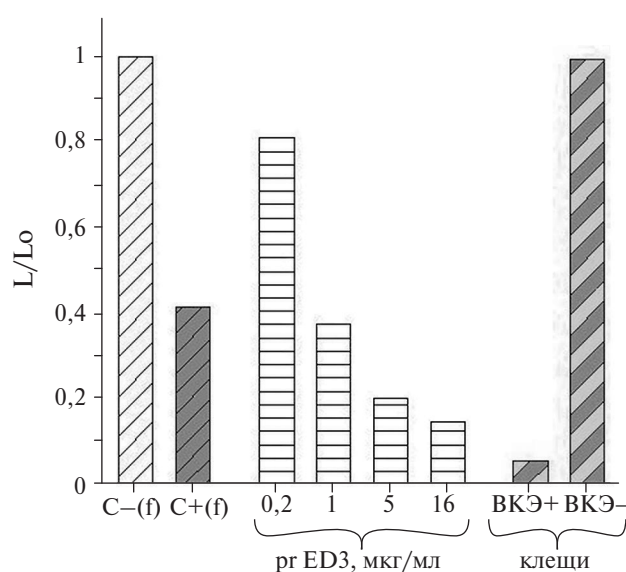


Рис. 3. Регенерация биолюминесцентной активности при хранении лиофилизированных реагентов С-(f), С+(f) при 5 °С в течение 3 месяцев. Однофазный биолюминесцентный анализ антигена ргED3 и тестирование образцов ВКЭ-инфицированного (ВКЭ+) и «здорового» (ВКЭ-) клещей

Fig. 3. Bioluminescence regeneration of lyophilized С-(f), С+(f) reagents after storage at 5°C for 3 months. Single-phase bioluminescence assay of ргED3 antigen and testing of samples from (TBEV+) and “healthy” ticks

Образец С-(f) использовали для однофазного анализа белка ргED3, а также экстрактов «здорового» и ВКЭ-инфицированного клещей. Как видно из рис. 3, падение относительного биолюминесцентного сигнала при ргED3 в концентрации 5 мкг/мл составляло почти 80 %, что близко к таковому при использовании свежеприготовленного реагента (рис. 1а). Сигналы от экстрактов ВКЭ-инфицированного и «здорового» клещей различались почти на порядок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нами получен работоспособный лиофилизированный реагент «все в одном», пригодный для быстрого тестирования клеща на присутствие ВКЭ. Каталитическое окисление субстрата удалось существенно замедлить изолированием белковых компонентов при последовательном замораживании их растворов. Анализ проводится добавлением анализируемого образца, процедуры промывки, дополнительного инкубирования, добавления субстрата и др. при этом отсутствуют. Это обеспечивает быстрое тестирование, в том числе

в условиях удаления от лабораторий при наличии портативного фотометра. В литературе имеются сведения о разработке таких инструментов размером с обычный смартфон, например, как в работах [8, 9].

Полученные результаты могут быть использованы для разработки тест-систем на выявление других мишеней путем замены биоспецифической части гибридных молекул. Причем метки в виде бифункциональных молекул можно получать не только генетическим фьюзингом, но и химическим синтезом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андаев Е.И., Никитин А.Я., Толмачёва М.И. и др. Эпидемиологическая ситуация по клещевому вирусному энцефалиту в Российской Федерации в 2022 г. и прогноз ее развития на 2023 г. // Проблемы особо опасных инфекций. 2023. Т. 1. С. 6–16. <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-6-16>
2. Колясникова Н.М., Ишмухаметов А.А., Акимкин В.Г. Современное состояние проблемы клещевого энцефалита в России и мире // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. 2023. Т. 22. № 1. С. 104–123. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2023-22-1-104-123>
3. Kudryavtsev A.N., Denisova E.E., Krasitskaya V.V., et al. Designing the homogeneous competitive bioluminescence-based assay for tick-borne encephalitis virus (TBEV) point-of-care detection // Anal. Bioanal. Chem. 2025. V. 417. P. 5931–5939. <https://doi.org/10.1007/s00216-025-06090-w>
4. Baykov I.K., Desyukevich P.Y., Mikhaylova E.E., Kurchenko O.M., Tikunova N.V. Computational and rational design of single-chain antibody against tick-borne encephalitis virus for modifying its specificity // Viruses. 2021. V. 13. № 1494. <https://doi.org/10.3390/v13081494>
5. Burakova L.P., Kudryavtsev A.N., Stepanyuk G.A., et al. Bioluminescent detection probe for tick-borne encephalitis virus immunoassay // Anal. Bioanal. Chem. 2015. V. 407. P. 5417–5423. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8710-6>
6. Кудрявцев А.Н., Денисова Е.Е., Байков И.К., Тикунова Н.В., Франк Л.А. Патент РФ № 2844579. 2025.
7. Байков И.К., Емельянова Л.А., Соколова Л.М. и др. Анализ доменной специфичности протективного химерного антитела ch14D5a против гликопротеина Е вируса клещевого энцефалита // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22. № 4. С. 459–467. <https://doi.org/10.18699/VJ18.383>
8. Viviani V.R., Teixeira M.S., Pelentir G.F. CadmiLume: a novel smartphone-based bioluminescence color-tuning assay and biosensor for cadmium and heavy metal detection in water samples // Methods Protoc. 2025. V. 8, № 2. P. 33. <https://doi.org/10.3390/mps8020033>
9. Upadhyay S., Kumar A., Srivastava M., et al. Recent advancements of smartphone-based sensing technology for diagnosis, food safety analysis, and environmental monitoring // Talanta. 2024. V. 275. № 126080. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126080>

REFERENCES

1. Andaev E.I., Nikitin A.Ya., Tolmacheva M.I., et al. Epidemiological Situation on Tick-Borne Viral Encephalitis in the Russian Federation in 2022 and Forecast of its Development for 2023. Problems of Particularly Dangerous Infections. 2023. V.1. P. 6–16. (In Russ.) <https://doi.org/10.21055/0370-1069-2023-1-6-16>
2. Kolyasnikova N.M., Ishmukhametov A.A., Akimkin V.G. The current state of the problem of tick-borne encephalitis in Russia and the world. Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2023. V. 22. no.1. P. 104–123. (In Russ.) <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2023-22-1-104-123>
3. Kudryavtsev A.N., Denisova E.E., Krasitskaya V.V., et al. Designing the homogeneous competitive bioluminescence-based assay for tick-borne encephalitis virus (TBEV) point-of-care detection. Anal. Bioanal. Chem. 2025. V. 417. P. 5931–5939. <https://doi.org/10.1007/s00216-025-06090-w>

4. Baykov I.K., Desyukevich P.Y., Mikhaylova E.E., Kurchenko O.M., Tikunova N.V. Computational and Rational Design of Single-Chain Antibody against Tick-Borne Encephalitis Virus for Modifying Its Specificity. *Viruses*. 2021. V. 13. № 1494. <https://doi.org/10.3390/v13081494>
5. Burakova L.P., Kudryavtsev A.N., Stepanyuk G.A., et al. Bioluminescent detection probe for tick-borne encephalitis virus immunoassay. *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. V. 407. P. 5417–5423. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8710-6>
6. Kudryavtsev A.N., Denisova E.E., Baykov I.K., Tikunova N.V., Frank L.A. RF Patent № 2844579. 2025.
7. Baykov I.K., Emelyanova L.A., Sokolova L.M., et al. Analysis of domain specificity of the protective chimeric antibody ch14D5a against glycoprotein E of tick-borne encephalitis virus. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii—Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2018;22(4):459–467. (in Russ). <https://doi.org/10.18699/VJ18.383>
8. Viviani V.R., Teixeira M.S., Pelentir G.F. CadmiLume: a novel smartphone-based bioluminescence color-tuning assay and biosensor for cadmium and heavy metal detection in water samples. *Methods Protoc.* 2025. V. 8, № 2. P. 33. <https://doi.org/10.3390/mps8020033>
9. Upadhyay S., Kumar A., Srivastava M., et al. Recent advancements of smartphone-based sensing technology for diagnosis, food safety analysis, and environmental monitoring. *Talanta*. 2024. V. 275. № 126080. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126080>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Кудрявцев Александр Николаевич — младший научный сотрудник, Институт биофизики СО РАН, ФИЦ Красноярский научный центр СО РАН, Красноярск, Российская Федерация
E-mail: kirush07@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0034-1879>

Франк Людмила Алексеевна — доктор биологических наук, главный научный сотрудник, зав. лаборатории биoluminesцентных и экологических технологий, Институт биофизики СО РАН, ФИЦ Красноярский научный центр СО РАН, Красноярск, Российская Федерация
E-mail: lfrank@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4462-1944>

Поступила в редакцию 31.10.2025

После доработки 30.01.2026

Принята к публикации 06.02.2026

ABOUT THE AUTHORS

Kudryavtsev, Alexander N. — Junior Researcher, Institute of Biophysics, Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”, Krasnoyarsk, Russian Federation
E-mail: kirush07@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0034-1879>

Frank, Ludmila A. — Dr. Sci. in Biology, Chief researcher, Head of the Laboratory of Bioluminescent and Environmental Technologies Institute of Biophysics, Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center SB RAS”, Krasnoyarsk, Russian Federation
E-mail: lfrank@yandex.ru
<https://orcid.org/0000-0003-4462-1944>

Received October 31, 2025

Revised January 30, 2026

Accepted February 06, 2026