

Секция «Биоинженерия и биоинформатика»

Выделение поликлональных антител на сперматозоидную глицеральдегид-3-фосфат дегидрогеназу человека из сыворотки крови кролика

Моисеева Евгения Витальевна

Студент

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Факультет
биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия*

E-mail: evgeniya.moiseeva@gmail.com

В настоящее время антитела широко применяются в медицине и биохимии для обнаружения белков-антигенов в тканях, клетках и биологических препаратах методами иммунохимического окрашивания, иммуноблоттинга, иммуноферментного анализа и т.д. Поэтому выделение и очистка антител на различные белки представляет собой важную практическую задачу.

В настоящей работе было проведено выделение поликлональных антител на сперматозоидную глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназу человека (GAPDs). Эта изоформа, в отличие от соматической изоформы GAPD, имеет особый N-концевой домен, при помощи которого GAPDs прочно связывается с цитоскелетом жгутика сперматозоида. Для получения растворимой формы фермента был получен рекомбинантный белок GAPDs, лишенный N-концевого домена (dN-GAPDs). Этот препарат использовали для иммунизации кролика с целью получения антител. Через месяц после иммунизации методами точечного блоттинга, а также твердофазного иммуноферментного анализа в сыворотке крови кролика были обнаружены антитела на dN-GAPDs. С помощью афинной хроматографии с твердым носителем (активированная бромцианом сефароза с иммобилизованным антигеном - dN-GAPDs) фракция иммуноглобулинов из сыворотки крови была очищена, а затем исследованы свойства полученных антител. В ходе очистки антител значение OD_{50} , которое характеризует афинность связывания антител с антигеном, снизилось почти в 35 раз (в исходной сыворотке 0,01 мг/мл, с очищенном препарате 0,29 мкг/мл). Было показано, что выделенные антитела специфичны к нативной форме dN-GAPDS и не взаимодействуют с денатурированной формой dN-GAPDS а также с нативной формой GAPD. Кроме того, было показано, что взаимодействие антител с ферментом dN-GAPDS влияет на его активность: инкубация с антителами в течение часа при комнатной температуре привела к увеличению удельной ферментативной активности dN-GAPDs почти на 20 %, что говорит о стабилизации нативной структуры фермента при взаимодействии с антителами.