

СОЗДАНИЕ СТАБИЛИЗИРОВАННОГО ДИСУЛЬФИДНОЙ СВЯЗЬЮ ОДНОЦЕПОЧЕНОГО АНТИТЕЛА ПРОТИВ ВИРУСА КЛЕЩЕВОГО ЭНЦЕФАЛИТА

Научный руководитель – Байков Иван Константинович

Голота Ольга Викторовна

Студент (бакалавр)

Новосибирский государственный университет, Новосибирск, Россия

E-mail: olia.golota@mail.ru

На сегодняшний день создание одноцепочечных фрагментов антител (scFv) стало признанным методом, используемым для получения полностью функционального антигенсвязывающего фрагмента антитела в бактериальных системах. ScFv используют для иммунодетекции, иммуноанализа, в аффинной хроматографии и при создании библиотек антител.[1]

Использование одноцепочечных антител в качестве терапевтических средств требует оптимизации ряда их характеристик. К ним относятся аффинность и специфичность связывания, стабильность структуры, растворимость и т.д. Ранее были разработаны одноцепочечные антитела, стабилизированные посредством дисульфидной связи, но не применительно к вирусу клещевого энцефалита. Кроме того, ранее было разработано одноцепочечное антитело sc14D5a против гликопротеина Е вируса клещевого энцефалита (ВКЭ), которое, как и все одноцепочечные антитела, не является стабильным. Иначе говоря, может принимать различные конформации, в том числе открытую конформацию, в которой антитело обладает меньшей аффинностью. В данной работе мы модифицировали одноцепочечное антитело sc14D5a против вируса клещевого энцефалита, внося в вариабельные домены мутации, которые способствуют образованию дисульфидной связи, связывающей два домена и стабилизирующей одноцепочечное антитело.

Целью данной работы является получение мутантного варианта одноцепочечного антитела sc14D5a против вируса клещевого энцефалита, которое будет стабилизировано дисульфидной связью.

В ходе данной работы была сконструирована плазмидная ДНК pHEN2-14D5-VH44VL100, содержащая точечные замены в гене одноцепочечного антитела, которые приводят к смене двух остатков глицина на остатки цистеина, а так же получено мутантное рекомбинантное одноцепочечное антитело sc14D5mut. Этот шаг позволит в дальнейшем выполнить остальные задачи этого исследования, а именно: измерить его сродство к фрагменту гликопротеина Е ВКЭ, а также оценить стабильность таких антител.

Исследование выполнено при поддержке фонда РФФ, грант № 19-74-00107

Источники и литература

- 1) Weatherill E.E. et al. Towards a universal disulphide stabilised single chain Fv format: Importance of interchain disulphide bond location and vLvH orientation // Protein Eng. Des. Sel. 2012. Vol. 25, № 7. P. 321–329.