

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-182

**ПОЛУЧЕНИЕ МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ К ВИРУСУ ПОЛИОМИЕЛИТА ШТАММОВ СЭБИН
ДЛЯ РАЗРАБОТКИ ИФА ТЕСТ-СИСТЕМЫ****OBTAINING MONOCLONAL ANTIBODIES TO POLIOVIRUS STRAINS SABIN FOR THE
DEVELOPMENT OF AN ELISA TEST SYSTEM**

М. Ю. Ермакова, С. В. Иванов, А. А. Шишова, А. А. Синюгина

*Федеральный научный центр исследований
и разработки иммунобиологических препаратов им. М. П. Чумакова РАН, Москва*

M. Yu. Ermakova, S. V. Ivanov, A. A. Shishova, A. A. Sinyugina

Chumakov Federal Scientific Center for Research and Development of Immune-and-Biological Products RAS, Moscow

✉ermakova_mj@chumakovs.ru

Аннотация

Полиомиелит — острое инфекционное заболевание, вызываемое полиовирусом. В качестве профилактики полиомиелита применяют два вида вакцин: оральную (живую) полиомиелитную вакцину и инактивированную полиомиелитную вакцину [1]. Для проверки иммуногенности вакцинных препаратов существует необходимость в разработке высокоспецифичной ИФА тест-системы, которая позволит проводить внутритиповую дифференциацию полиовирусов.

Abstract

Poliomyelitis is an acute infectious disease caused by the poliovirus. Two types of vaccines are used to prevent poliomyelitis: oral (live) polio vaccine and inactivated polio vaccine [1]. To test the immunogenicity of vaccine preparations, there is a need to develop a highly specific ELISA test system that will allow for intratype differentiation of polioviruses.

Инактивированная полиомиелитная вакцин включает в себя три антигенных компонента (D-антигена), соответствующие трем типам полиовируса (1, 2 и 3). D-антиген способствует выработке нейтрализующих антител, и именно его наличие обуславливает иммуногенные свойства вакцины. Количественное содержание D-антигена, определяемое с помощью ИФА, а также в реакции нейтрализации, применяется для оценки образцов при производстве каждой новой партии вакцин. Однако при анализе результатов не всегда наблюдается стабильная корреляция, что может быть связано с использованием поликлональных антител, снижающих чувствительность метода и увеличивающих риск перекрестной реактивности. В связи с этим цель исследования — получение моноклональных «верблюжьих» антител, специфичных к нейтрализующим сайтам трех типов D-антигена вируса полиомиелита штамма Сэбин.

Одним из современных подходов к созданию таких антител является метод фагового дисплея, позволяющий экспрессировать чужеродный белок на поверхности бактериофага [2]. На первом этапе работы был получен и очищен в цезиевом градиенте D-антиген вируса полиомиелита 1, 2 и 3-го серотипов. Очищенным антигеном иммунизировали альпак, лимфоциты которых послужили материалом для выделения пулов суммарной РНК. Далее были получены ДНК-фрагменты, кодирующие различные варианты антител, которые клонировали в фагмидный вектор в единую рамку считывания с геном, кодирующим белок р3 бактериофага М13. Таким образом, были получены библиотеки бактериофагов, содержащих последовательности антител V_{HH} (*Variable domain of the Heavy chain of the Heavychain antibody*).

На втором этапе для отбора целевых антител проводили процедуру биопэннинга, основанного на повторяющихся циклах инкубации, промывки, трансформации и повторной селекции связанного фага. После иммуноферментного анализа и секвенирования по Сенгеру были отобраны несколько клонов, несущих в себе гены антител, специфичных к D-антигену полиовируса 1, 2 и 3-го типов. Для 1-го и 3-го типа была произведена наработка и очистка целевых антител. Для подтверждения способности V_{HH} антител специфично связывать D-антиген вируса полиомиелита штаммов Сэбин проводили ИФА в сэндвич-варианте, где в иммунопанелях, сорбированных поликлональными кроличьими антителами к вирусу полиомиелита, инкубировали образцы D-антигена вируса Сэбин 1, 2 и 3-го типов. Детекцию проводили полученными V_{HH} с инкубацией в антителах Anti-6x His-Tag, конъюгированных с пероксидазой. Рекомбинантные антитела также оценивали в реакции нейтрализации вируса

полиомиелита трех серотипов штамма Сэбин. В результате была доказана специфичность полученных моноклональных антител к D-антигену полиовируса соответствующего штамма Сэбин.

Литература

1. Sabin A., Boulger L. History of Sabin attenuated poliovirus oral live vaccine strains // J. Biol. Standardization. 1973. Vol. 1, No. 2. P. 115-118.
2. Smith G. Filamentous Fusion Phage: Novel Expression Vectors That Display Cloned Antigens on the Virion Surface // Science. 1985. Vol. 228. P. 1315-1317.