

Флуоресцентно меченое человеческое одноцепочечное антиидиотипическое антитело против полициклических ароматических углеводов

Научный руководитель – Устинов Валентин Анатольевич

Елисейкин Алексей Михайлович

Студент (бакалавр)

Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения РАН,
Кемерово, Россия

E-mail: aleksej.elisejkin.98@bk.ru

Елисейкин Алексей Михайлович, Гребенщиков Иван Сергеевич

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр угля и углехимии Сибирского отделения Российской академии наук» (ФИЦ УУХ СО РАН), Институт экологии человека, г. Кемерово, Россия

E-mail: aleksej.elisejkin.98@bk.ru

Благодаря методам генной инженерии зеленые флуоресцентные белки (ЗФБ) успешно экспрессируют во многих организмах. ЗФБ в качестве маркерного протеина можно присоединить к другому белку. Если совместить ген ЗФБ с геном, кодирующим антитело, после транскрипции и трансляции образуется гибридное антитело, состоящее из двух частей. Поскольку ЗФБ является относительно небольшим биохимически инертным белком, он с высокой вероятностью не будет мешать своему «партнёру» выполнять свои функции. Но при этом вся гибридная конструкция будет ярко флуоресцировать, что даст возможность наблюдать её флуоресцентной микроскопией и/или флуоресцентной проточной цитометрией. Оба способа основаны на использовании высоко специфичной способности узнавать антигенные детерминанты антигена флуоресцентно мечеными антителами. Эти методы широко используются в последнее время для обнаружения антигенов опухолей.

Целью данной работы было создание ДНК конструкции, кодирующей человеческое одноцепочечное антиидиотипическое антитело против бензо[а]пирена (А4) [1] с зеленым флуоресцентным белком (EGFP) и выделение химерного антитела аффинной хроматографией, для использования его в дальнейших экспериментах на клетках и тканях. Для этого была произведена сборка плазмидной конструкции, кодирующее человеческое одноцепочечное антиидиотипическое антитело против бензо[а]пирена с зеленым флуоресцентным белком и целлюлозо-связывающим доменом или His-хвостом. Полученной конструкцией были трансформированы бактериальные штаммы, для продуцирования химерного антитела. Следующим этапом была подборка оптимальных условий экспрессии химерного белка в бактериях и оптимизирование условий выделения белка из бактериальных клеток аффинной хроматографией: на целлюлозе, либо Ni²⁺ смолы. Химерный белок был выделен и охарактеризован иммуноферментным анализом и на флуориметре.

Работа поддержана финансированием: Госзадание №0352-2019-0011.

Научный руководитель - Устинов В.А., к.б.н., ФИЦ УУХ СО РАН, Институт экологии человека, лаборатория биотехнологии.

Источники и литература

- 1) Studennikov A.E., Ustinov V.A., Morozova V.V., Tikunova N.V., Glushkov A.N. New human single chain anti-idiotypic antibody against benzo[a]pyrene // Cent. Eur. J. Immunol., 2017. V. 42(2). P. 123-130.