**Обработка антител протеолитическими ферментами и оценка их чувствительности методом иммунохроматографии**

***Веретин Е.С.1,2, Моисеева А.А.1, Семейкина А.А.1***

*Студент, 4 курс бакалавриата*

*1Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, факультет химико-фармацевтических технологий и биомедицинских препаратов, Москва, Россия*

*2Институт биохимии им. А.Н. Баха, Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Москва, Россия*

*E-mail: egorka.veretin@mail.ru*

Сепсис характеризуется высокой летальностью, поэтому остается серьезной проблемой в здравоохранении. Своевременная его диагностика играет решающую роль в ходе заболевания. С-реактивный белок (СРБ) является одним из широко используемых маркеров воспаления, включая сепсис. Уровень СРБ в крови значительно повышается при развитии воспалительного процесса, что делает его ценным инструментом для диагностики и мониторинга сепсиса.

В настоящее время для диагностики СРБ используют микробиологические и иммуноферментные (ИФА) методы анализа. Эти методы, хотя и обладают высокой точностью, требуют сложного оборудования, длительного времени выполнения и квалифицированного персонала. Иммунохроматографический анализ (ИХА) предлагает значительные преимущества, такие как быстрота выполнения, простота использования и возможность проведения анализа у постели больного. На рынке доступно множество высокочувствительных тестов на СРБ, предназначенных для диагностики сердечных заболеваний. Однако, при диагностике сепсиса такая высокая чувствительность может давать ложноположительные результаты. Поэтому существует потребность в менее чувствительных антителах к СРБ, что позволит повысить точность диагностики.

В связи с этим, доступ к антителам с низкой чувствительностью является актуальной проблемой. Одним из перспективных направлений является модификация чувствительности антител к СРБ с целью повышения специфичности его определения. Цель данного исследования заключается в обработке антител протеолитическими ферментами, такими как пепсин и папаин, а также оценка их чувствительности методом ИХА. Такой подход приведет к изменению их структуры и, как следствие, к снижению аффинности к СРБ. При этом, важно сохранить специфичность антител, чтобы избежать ложноотрицательных результатов.

На первом этапе проводился отбор антител («Hytest», Россия) методами ИХА и ИФА. После проводилась оптимизация методики расщепления антител: диапазон концентраций каждого фермента составлял от 1.6:1 до 10:1. Далее фракции, содержащие фрагменты моноклональных антител, были разделены с помощью аффинной хроматографии на сефарозе с белком А, используя для элюирования 100 мМ глициновый (pH=3) и 50 мМ фосфатно-солевой (рН=7.4) буферы. Полученные белковые фракции нейтрализовали 1М Трис буфером (pH=8) до pH=7. Заключительным этапом являлось определение концентрации антител спектрофотометрическим методом.

Обработанные антитела наносились на рабочую мембрану иммунохроматографической тест-системы. В качестве маркера выступали частицы монодисперсного латекса, которые конъюгировались с антителами к С-реактивному белку карбодиимидно - сукцинимидным методом.

Экспериментально удалось добиться снижения чувствительности антител в 10 раз. Метод белкового электрофореза свидетельствует об успешном проведении эксперимента. Таким образом, данный подход позволит создать более специфичный иммунохроматографический тест для диагностики сепсиса, основанный на определении уровня СРБ.