

Измерение константы диссоциации комплекса антиген-антитело в зависимости от детектирующего антитела

Научный руководитель – Охрименко Иван Станиславович

Логвиненко Елизавета Алексеевна

Студент (магистр)

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

E-mail: logvinenko.ea@phystech.edu

Иммуноглобулин Е (IgE) человека является основным маркером аллергической реакции в человеческом организме. Флуориметрический метод детекции аллерген-специфических IgE в крови человека позволяет спроектировать высокоточную систему диагностики аллергических патологий, в которой IgE, выступающий в роли антигена, детектируется в крови человека при помощи антивидовых антител, конъюгированных с флуоресцентной меткой [2]. Для наибольшей чувствительности метода необходимо максимизировать аффинность связывания при образовании комплекса антиген-антитело. На аффинность взаимодействия антивидовых антител с IgE человека влияет количество молекул флуоресцентного красителя, ковалентно присоединённых к одному антителу, этот параметр меняется в зависимости от эффективности реакции конъюгации [4].

При помощи метода микроскопического термофореза (МСТ) [5] была измерена константа диссоциации комплекса антиген-антитело, образованного IgE человека и флуоресцентномеченным моноклональным иммуноглобулином G (IgG) мыши, представленным в различных вариантах: клоны 4F4cc (OriGene Technologies, Inc., США), IEF6 (ОАО ВНИИ-НМДЛ, Россия) и ICO-539 (ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, Россия). Также удалось получить сходимые результаты при помощи методов иммуноферментного анализа (ИФА) [1] и интерферометрии в биослое (BLI) [3]. Для проведения хромогенной реакции и возможности детекции комплексов с помощью методов ИФА дополнительно использовались проявляющие антивидовые антитела козы против IgG мыши, конъюгированные с пероксидазой хрена.

Проведённые эксперименты позволили определить, какое из рассматриваемых антител обладает наибольшей аффинностью к IgE человека.

Источники и литература

- 1) Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA // *Peptides*. 2015. V. 72. P. 4-15. DOI: 10.1016/j.peptides.2015.04.012.
- 2) Coons A.H. Fluorescent antibody methods // *Gen. Cytochem. Methods*. 1958. V. 1. P. 399-422.
- 3) Kamat V., Rafique A. Designing binding kinetic assay on the bio-layer interferometry (BLI) biosensor to characterize antibody-antigen interactions // *Anal. Biochem*. 2017. V. 536. P. 16-31.
- 4) Kim T.E. [et al.]. Quantitative measurement of serum allergen-specific IgE on protein chip // *Exp. Mol. Med*. 2002. V. 34(2). P. 152-158.
- 5) Linke P. [et al.]. An automated microscale thermophoresis screening approach for fragment-based lead discovery // *J. Biomol. Screening*. 2016. V. 21(4). P. 414-421.