ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА КОНЪЮГАТА ПЕПТИДА CSK31 ИЗ ФОСФОЛИПАЗНОГО ДОМЕНА КАПСИДНОГО БЕЛКА ПАРВОВИРУСА B19 С БЫЧЬИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

Хрусталёв В.В.[1], Побойнев В.В.[1], Акуневич А.А.[1], Контява О.В.[1], Харитонова У.В.[1], Ронишенко Б.В.[2], Ермолович М.А.[3]

[1]УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Беларусь
[2]ГНУ «Институт физико-органической химии НАН Беларуси», Минск, Беларусь
[3]ГУ «РНПЦ эпидемиологии и микробиологии», Минск, Беларусь

vvkhrustalev@mail.ru

Проведена иммунизация кроликов конъюгатом синтетического пептида CSK31 с белком-носителем – бычьим сывороточным альбумином (БСА), согласно стандартному протоколу для получения поликлональных кроличьих антител длительностью три месяца, включающему первичное введение антигена с полным адъювантом Фрейнда (2 мг на кролика) и три дополнительных введения антигена (1 мг на кролика) через каждые 14 дней, внутрикожно. Синтетический пептид CSK31 сконструирован на основании консенсусной последовательности двух наиболее структурно стабильных альфа-спиральных фрагментов фосфолипазного домена капсидного белка VP1u парвовируса B19, сшитых через остаток глицина [1], с дополнительным остатком цистеина на N-конце для конъюгации с белком-носителем через SMCC. Антитела из иммунных сывороток кроликов очищены на колонке SulfoLink (Thermo Scientific), на которой был иммобилизирован конъюгат пептида CSK31 с бычьим сывороточным альбумином, и сконцентрированы с помощью фильтров Amicon Ultra 0,5 мл с порогом отсечения 30 кДа. По результатам аффинной хроматографии, половина поликлональных антител, выработанных к конъюгату CSK31 с БСА, осталась на колонке AminoLink Plus (Thermo Scientific) с иммобилизированным пептидом SK30 после завершения стандартного протокола промывки и элюции, и была удалена с колонки только в результате трёхкратного нагревания до 60°C в течение 10 минут – в колонке при этом находился глицин·HCl буфер с pH=2,5. Другая порция очищенных и сконцентрированных антител к конъюгату CSK31 с БСА была иммобилизирована на колонке с NHS-активированной агарозой (Thermo Scientific). Согласно результатам аффинной хроматографии часть этих поликлональных антител способна к взаимодействию как с рекомбинантным белком VP1u, так и с вирионами парвовируса B19 из сыворотки пациента с виремией. Пептид в составе конъюгата сохранил антигенные свойства полноразмерного белка, так как разностный спектр флюоресценции при длине возбуждения 280 нм между растворами, полученными после трёхкратного и двукратного нагревания колонки по описанной выше методике, по положению максимума флюоресценции (в районе 340 нм) схож с таковым для рекомбинантного белка VP1u. Среди поликлональных антител, выработанных кроликами на конъюгат пептида CSK31 с БСА, в достаточном количестве присутствуют антитела, образующие высокоаффинный комплекс с пептидом SK30, в меньшем количестве – с рекомбинантным белком VP1u и с поверхностным белком VP1 в составе вирионов парвовируса B19.

Литература

1. Дизайн синтетического вакцинного пептида, соответствующего фосфолипазному домену капсидного белка парвовируса B19 / В.В. Хрусталёв, Т.А. Хрусталёва, В.В. Побойнев, А.Н. Стожаров, Н.В. Шалыго, Е.О. Самойлович, М.А. Ермолович, Г.В. Семейко // Современные проблемы инфекционной патологии человека: сб. науч. тр. / М-во здравоохранения Респ. Беларусь. РНПЦ эпидемиологии и микробиологии; под ред. В.А. Горбунова. – Минск, 2021. – Вып. 14. – С. 157-163.

Институт биофизики
и клеточной инженерии
НАН Беларуси

95 гадоў
НАЦЫЯНАЛЬНАЙ АКАДЭМІІ НАВУК БЕЛАРУСІ

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ БИОФИЗИКИ И КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ
НАН БЕЛАРУСИ

СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ КЛЕТОЧНОЙ ИНЖЕНЕРИИ, ИММУНОЛОГИИ И АЛЛЕРГОЛОГИИ

Тезисы докладов
международной научной конференции,
посвященной 50-летию института

(Республика Беларусь, Минск, 26–27 октября 2023 г.)

Научное электронное издание

Минск
«Колорград»
2023