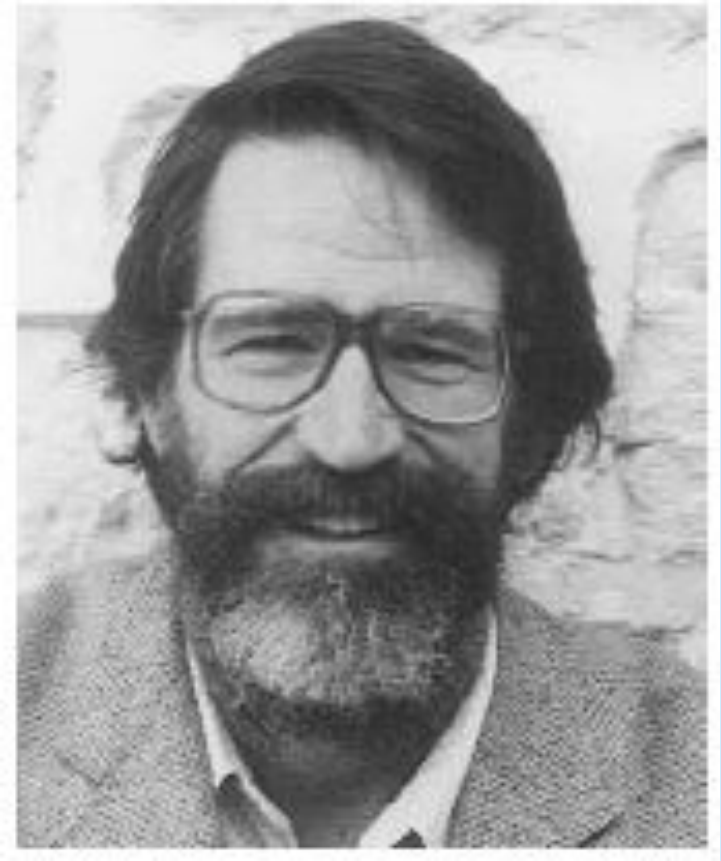
ФАГОВЫЙ ДИСПЛЕЙ

Миненкова Ольга, Sigma-tau, SpA, Pomezia (Rome)

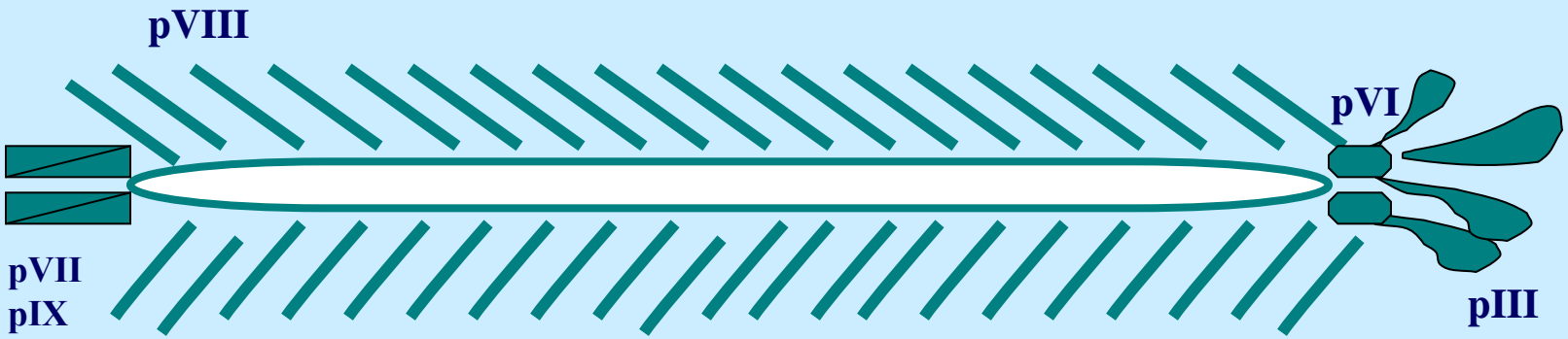
2014

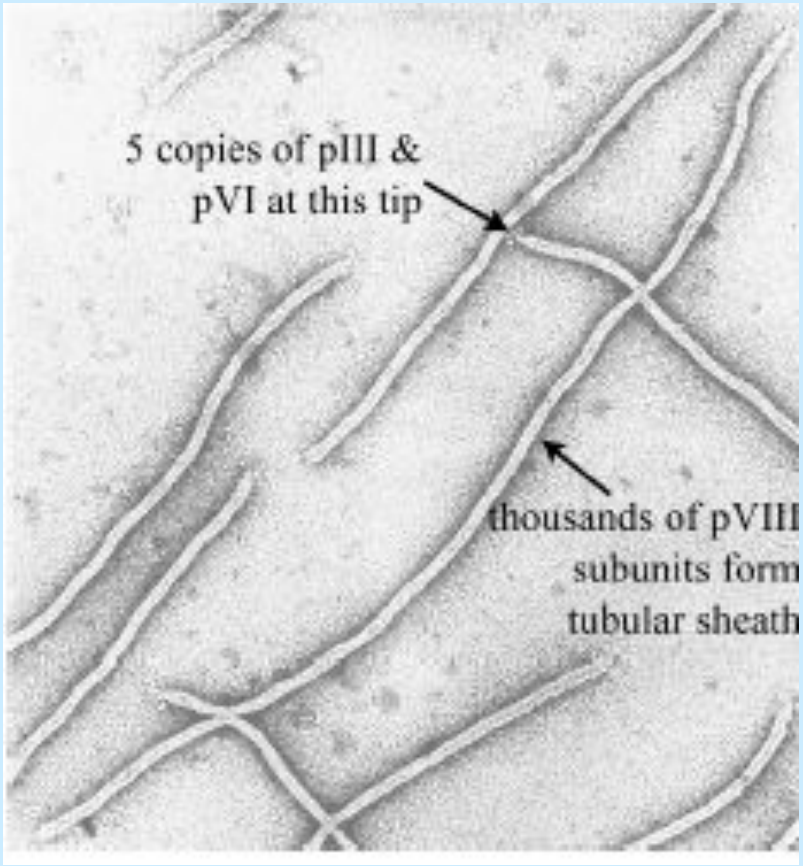


George P Smith, 1941. Основатель метода фаговый дисплей.

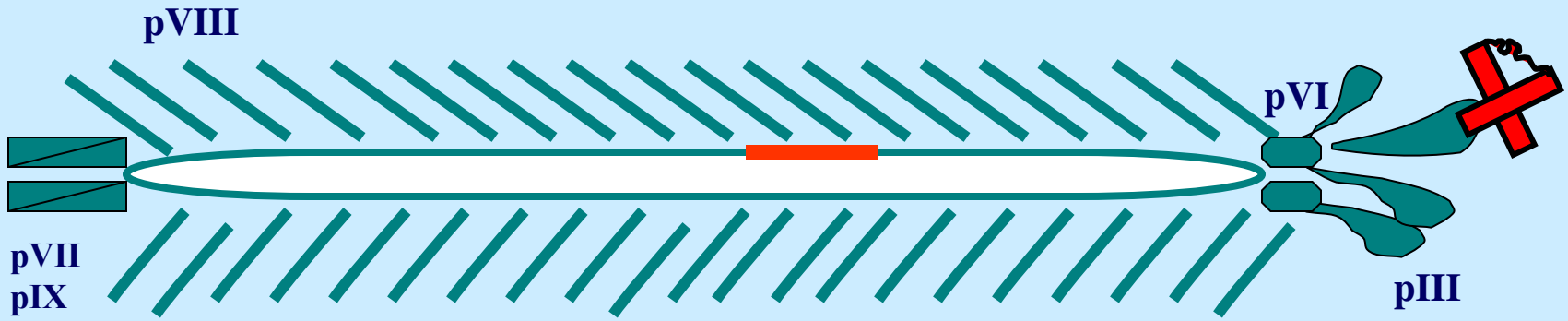
НИТЧАТЫЙ ФАГ М13

НИТЧАТЫЙ ФАГ М13

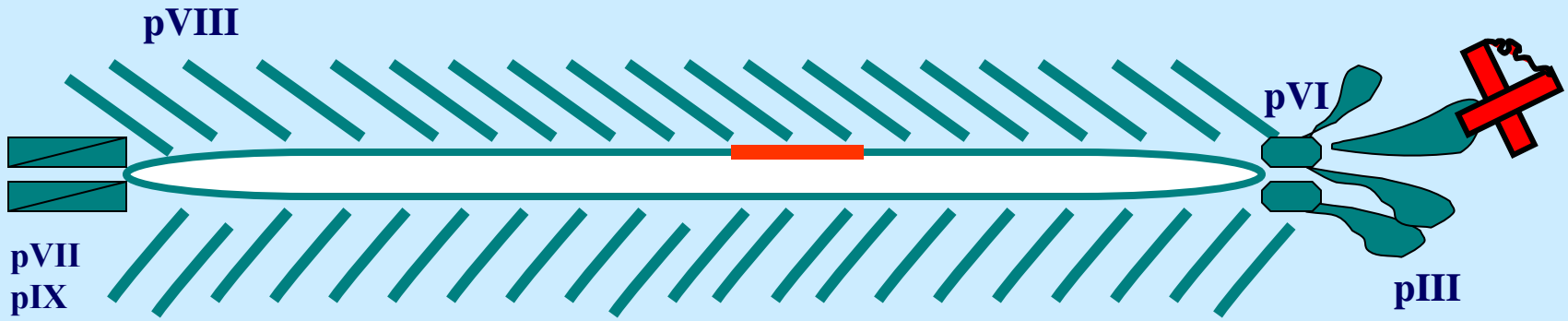


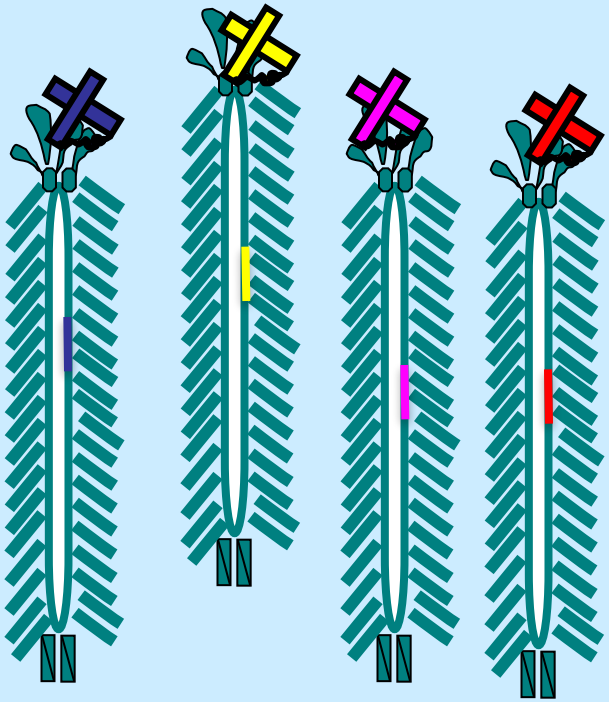


НИТЧАТЫЙ ФАГ М13



НИТЧАТЫЙ ФАГ М13

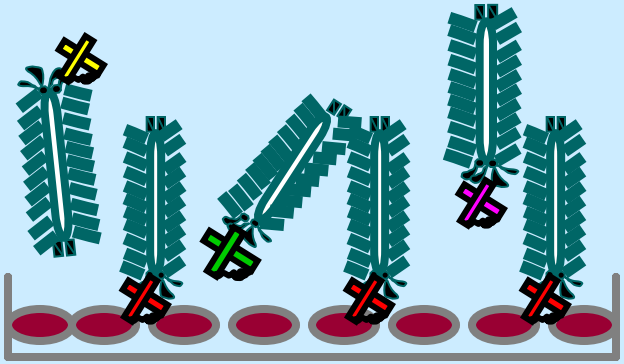




ФАГОВАЯ БИБЛИОТЕКА

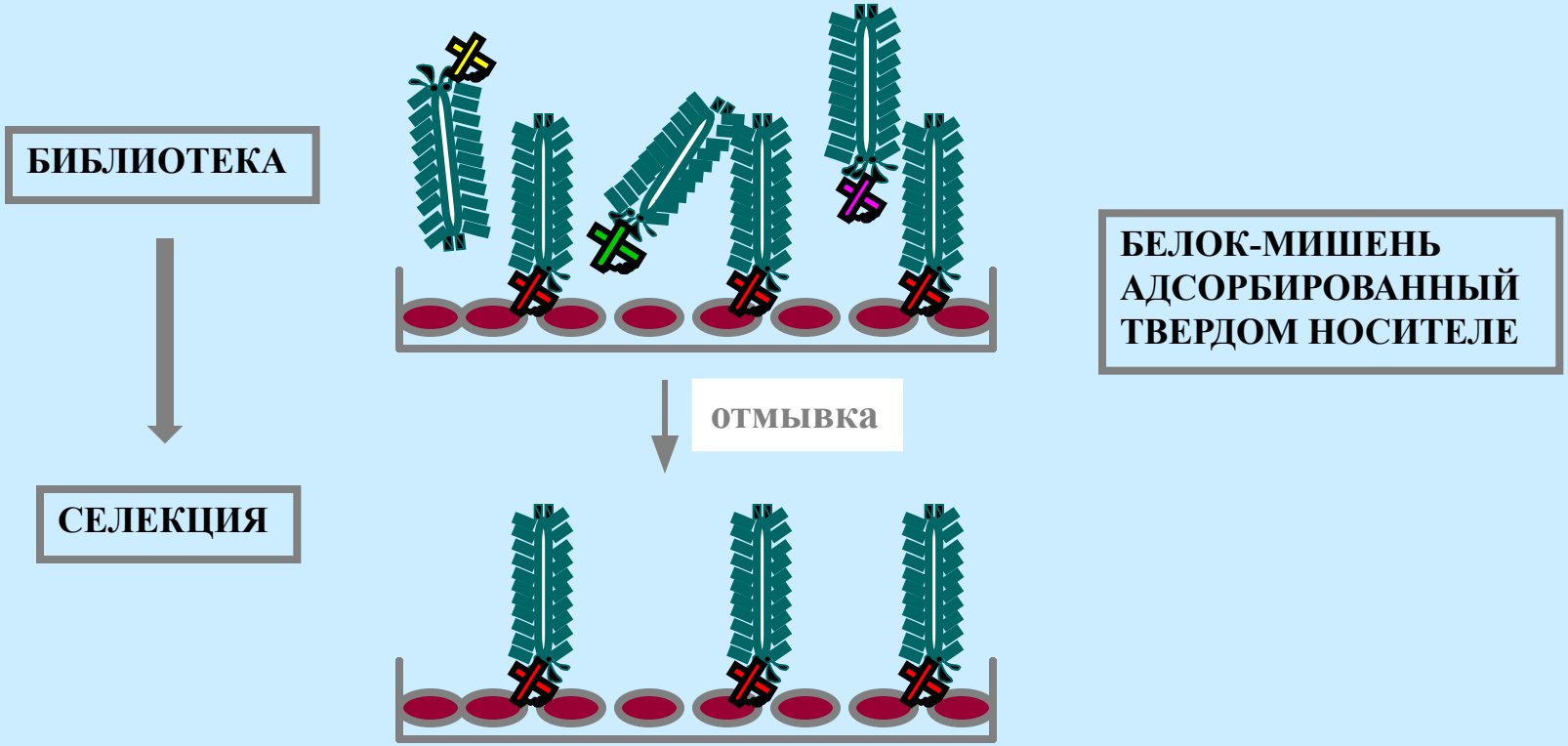
АФФИННАЯ СЕЛЕКЦИЯ/БИОПАННИНГ

БИБЛИОТЕКА

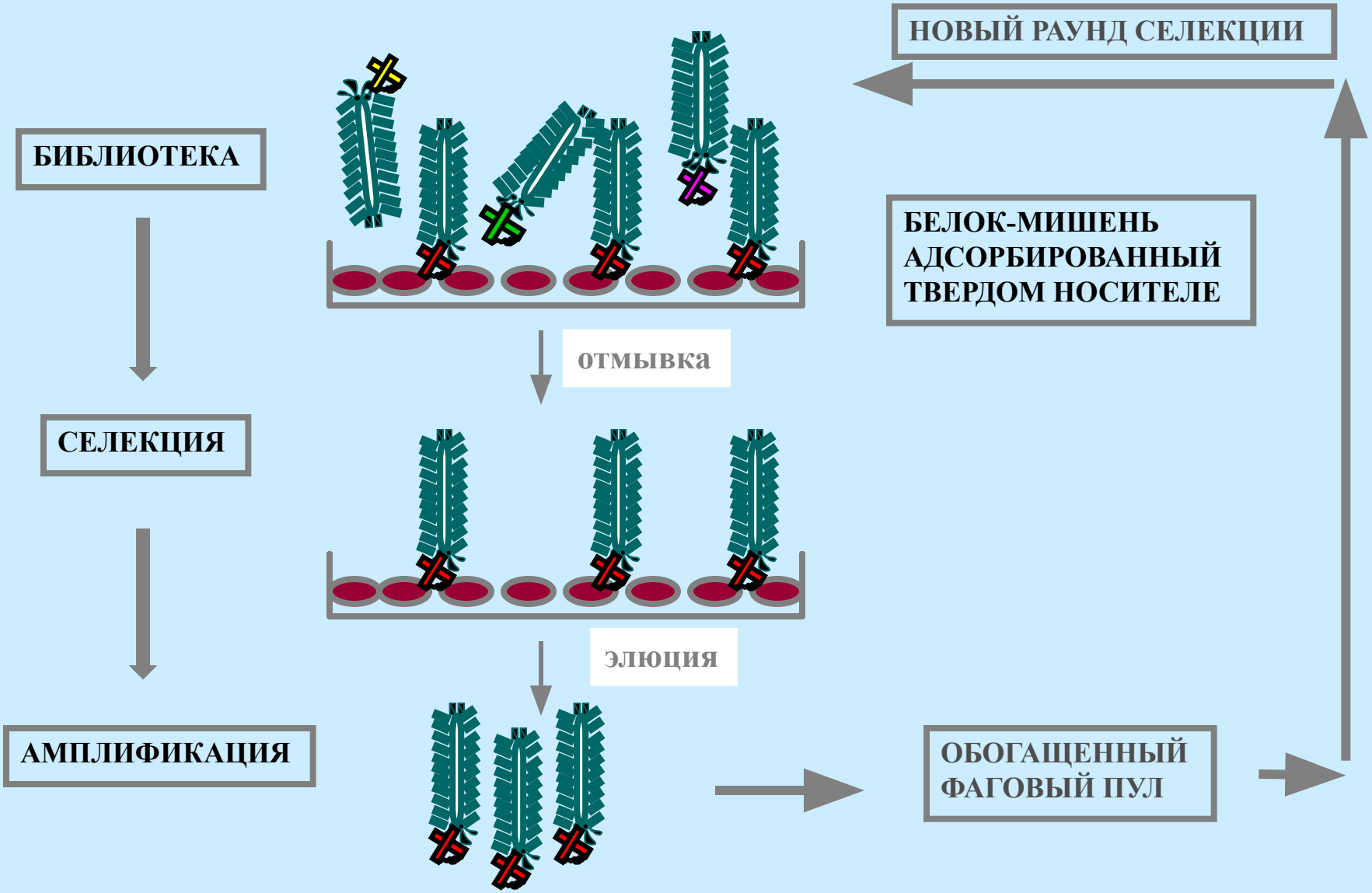


БЕЛОК-МИШЕНЬ АДСОРБИРОВАННЫЙ ТВЕРДОМ НОСИТЕЛЕ

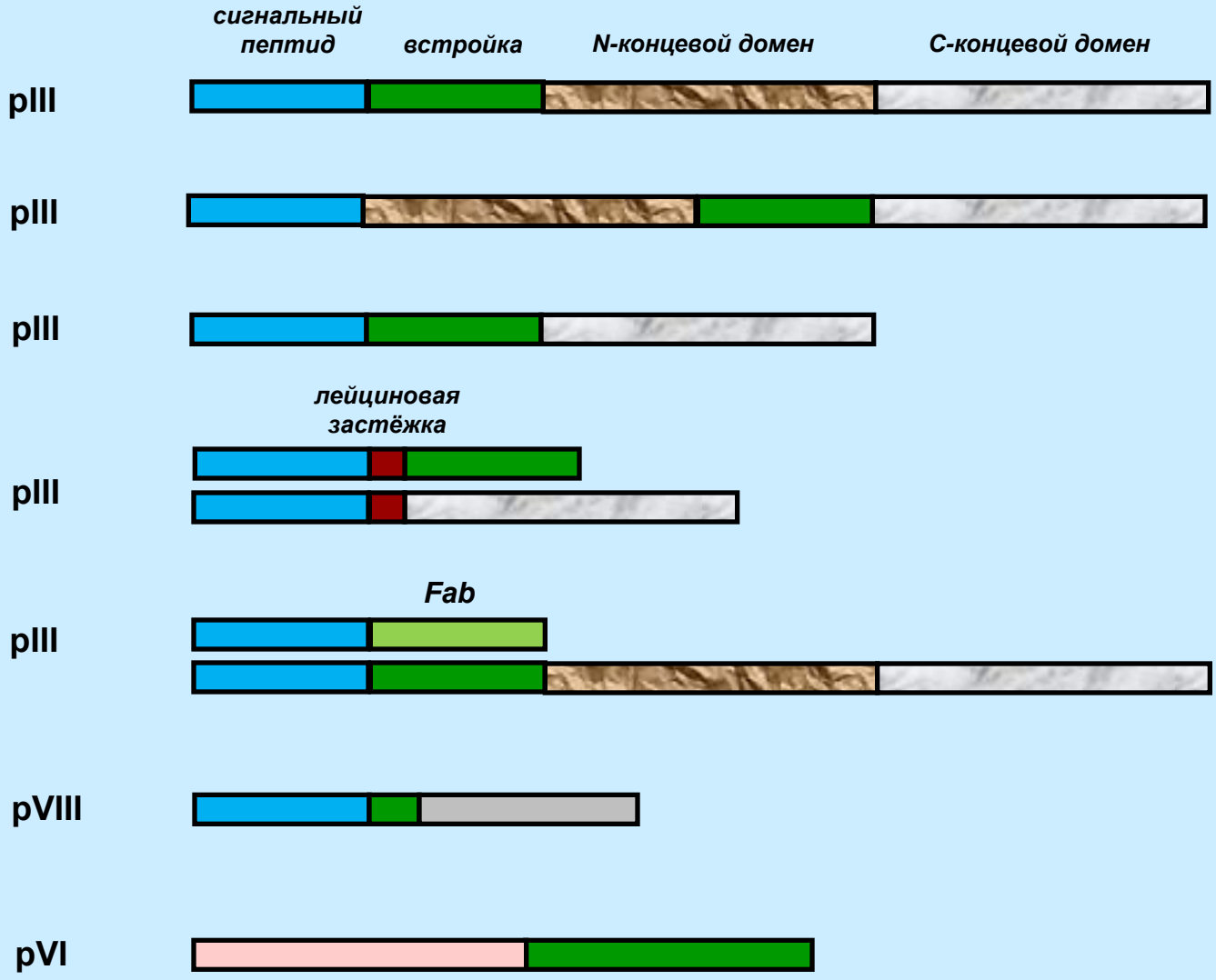
АФФИННАЯ СЕЛЕКЦИЯ/БИОПАННИНГ



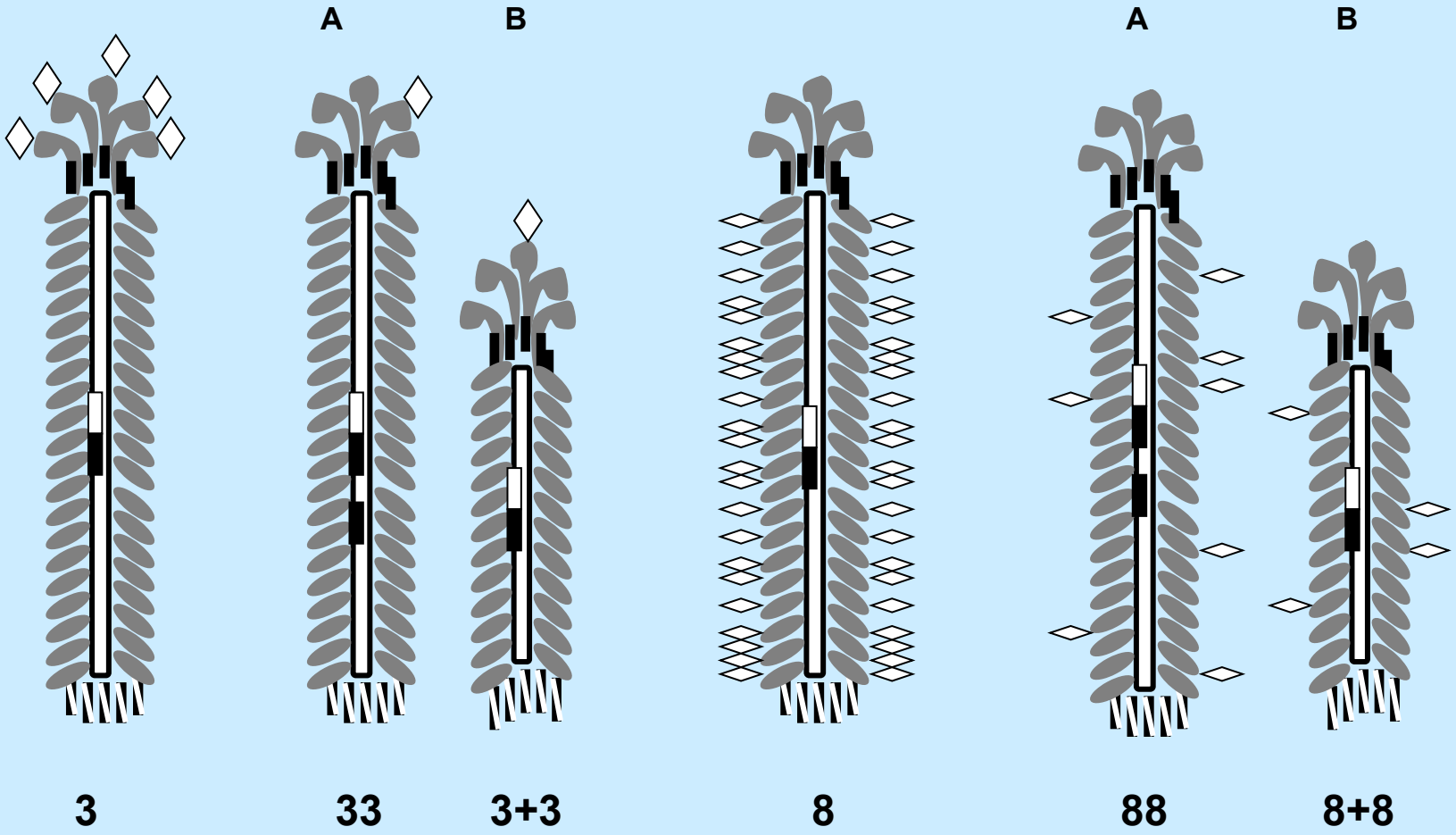
АФФИННАЯ СЕЛЕКЦИЯ/БИОПАННИНГ



Как чужеродный полипептид может быть сшит с фаговыми белками



ТИПЫ ДИСПЛЕЯ НА НИТЧАТОМ ФАГЕ



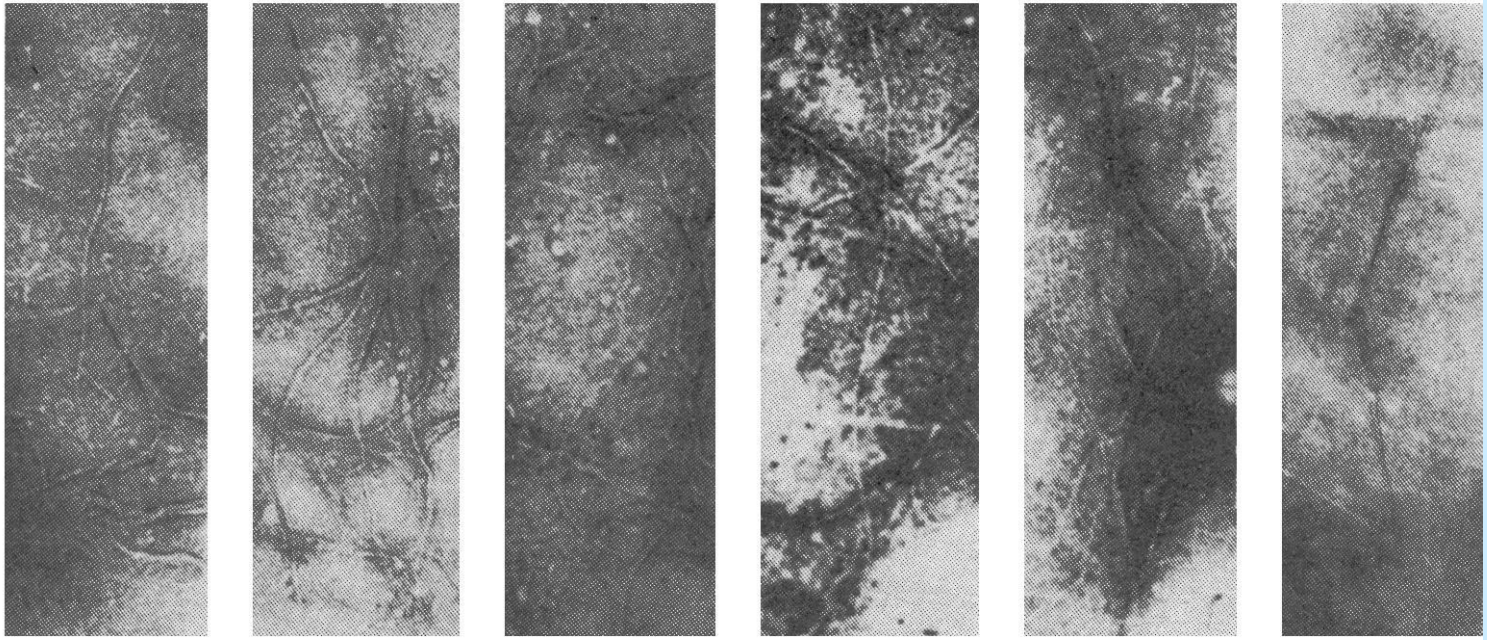
ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФАГОВ

кислый домен 1-6	амфипатичный домен 7-20	гидрофобный домен 21-39	основной домен 40-50

M13B	A E G D D P A K A...
M13B1	A E G E D P A K A...
M13BOM1	A E G E D Q A S G D P A...
M13BOM2	A E G E G Q A S G D P A...
M13BOL1	D H L M P D P A...
M13BOL2	A E G E D R W M P D P A...

ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФАГОВ

КОНТУРНАЯ ДЛИНА ФАГОВ



mp10 *B* *B1* *BOM1* *BOM2* *BOL1*

Контурные длины рекомбинантных фагов совпадают с точностью 0.3% и превышают длину исходного фага M13mp10 на 10% за счет встройки гена Ар.

ПОЛУЧЕНИЕ БАКТЕРИОФАГА M13BOL2

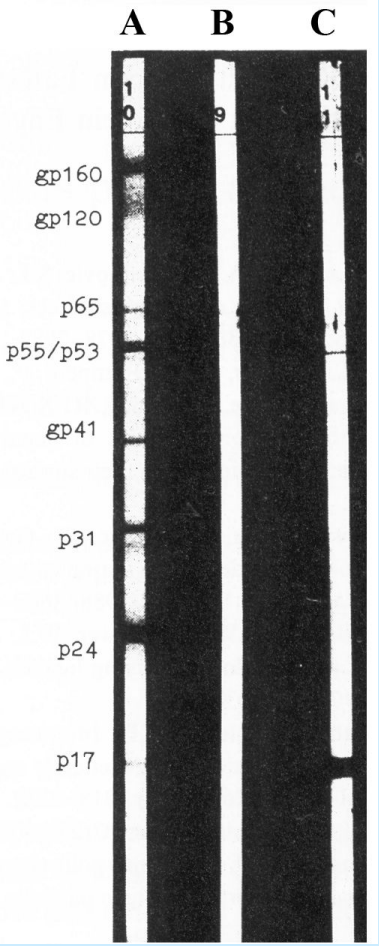
```
p17
    11                          19
... G   E   L   D   R   W   E   K   I ...

M13BOL1
                                            5   6   7   8   9
                          D   H   L   M   P   D   P   A   K   A ...
5'...GCT GAG GGT GAG GAT CAC CTG ATG CCT GAT CCC GCA AAA GCG...3'
          3'-CCA CTC CTA G G   C TAC GGA C-5'
                          C   AC
```

олигонуклеотид-направленный мутагенез

```
M13BOL2
     1   2   3   4                       5   6   7   8   9
     A   E   G   E   D   R   W   M   P   D   P   A   K   A ...
5'...GCT GAG GGT GAG GAT CGC TGG ATG CCT GAT CCC GCA AAA GCG...3'
```

ИССЛЕДОВАНИЯ СВОЙСТВ РЕКОМБИНАНТНЫХ ФАГОВ

ИММУНОГЕННОСТЬ



A – ВИЧ-1 положительная сыворотка человека

B – кроличья сыворотка анти-M13mp10

C – кроличья сыворотка анти-M13BOL2

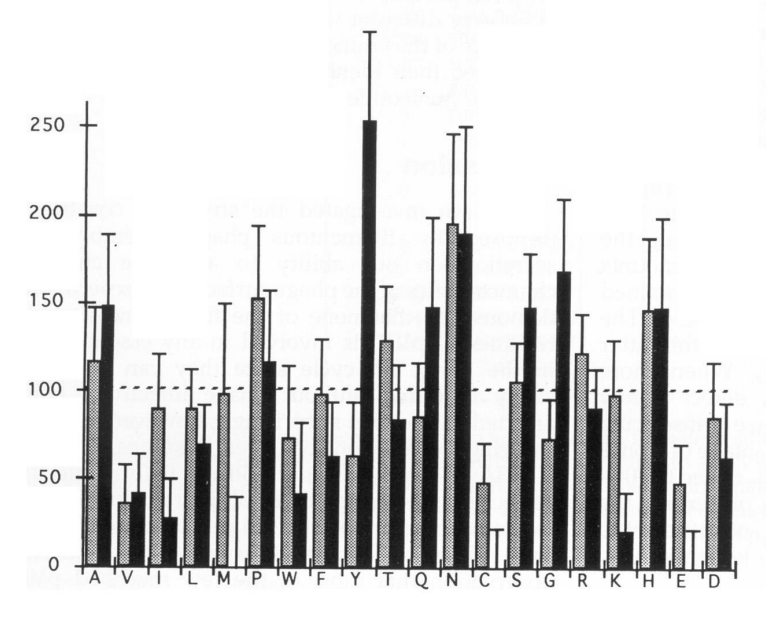
ДЕКАПЕПТИДНЫЕ ВСТРОЙКИ

ЖИЗНЕСПОСОБНЫЕ ФАГИ

PM48.1	LRQYSAQGA
2	RNPIYYSTT
6	KGNFAGPSG
7	HNRSTVDIP
4	TNALQTALP
5	RYFLNSAAP
8	RTGYGSAPT
12	YGGGRSSAT
13	GSSWGYASP
14	TPLHFDSGA
23	THYQGRAGA
PCR1	SRYHQSPGA
PCR9	LRSVNQGYA
PCR10	HPTNYYPGS
PCR12	QHADLVSLP
PCR13	PYRSPPSSQ
PCR17	YARNASHLA
PCR22	RRSSNAVPLP

ВСТРОЙКИ В ПЛАЗМИДУ

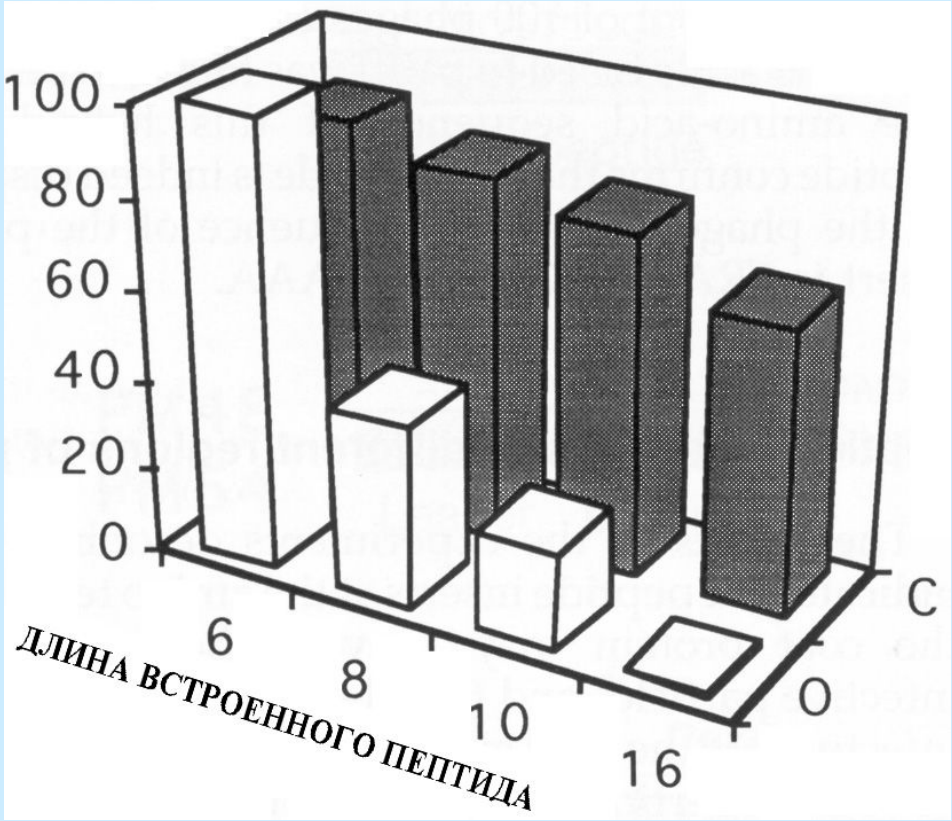
F2	LGRNFIAVT	F14	RHDIPGRTE	F28	VRNCSTLWG
F3	VLVHMNNNT	F15	EKEMQFLNG	F29	WPRLGLKLL
F4	INRTPLKTR	F16	NPSKIASS	1	QNPPPPTLT
F5	LLFSRSRRP	F18	SKPIGSTRQ	3	AQMSGRTAS
F6	QRSISPTRR	F19	THSHFTHPE	4	TGNFCLNLT
F8	PPRIHRAPR	F20	DHANKNRHG	6	LTNLSSGRP
F9	EYRAPLAPG	F22	SDKSSPQMP	7	EHDRNLKPP
F10	NTSARSRHP	F23	RFATRTISR	10	VTDGATWGS
F11	LIRTGARAT	F26	ADAIGVPLR	11	RSLPPTYHP
F12	PHSLDSFRL	F27	IQYPQSAAS	12	RTLCSPPAT
F13	FCGARRTSP				



ВСТРЕЧАЕМОСТЬ В ФАГЕ

ВСТРЕЧАЕМОСТЬ В ФАГМИДЕ

ЗАВИСИМОСТЬ ОТ ДЛИНЫ ВСТРОЙКИ



ПЕПТИДНАЯ БИБЛИОТЕКА ТИПА 8

МКА АНТИ-ИНТЕРЛЕЙКИН 1β

NNDTAIP
SNDPFLP
GNDNPFP
RNDYSIP
NNDTAIP
NNDSVLP
SNDSPFP
SNDGAIP
SNDWTLP
SNDGAIP
SNDYGIP
HRSNDAV

МКА АНТИ-NGF (λ-D11)

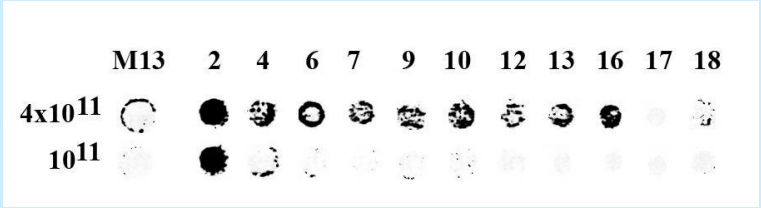
WGASHDR
YGARHDV
YGRSHDL
RGSRHDL
RGSRHGP
WRRPHDV
LRAPHDV
PTRFHDL
LCPTHDV
LRAPHDV

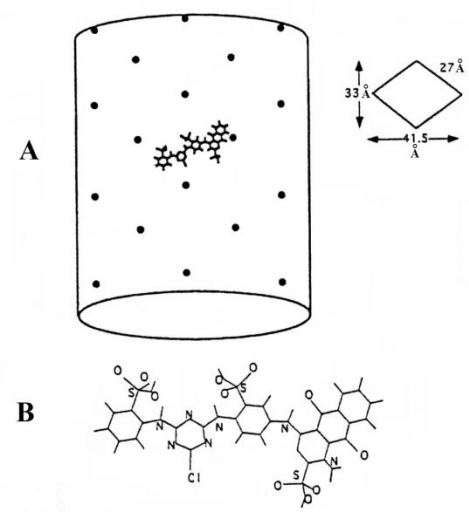
МКА АНТИ-NGF (4C8)

NTLQPIP
NTLQFIP
MTPQPIP
PTLQPVP
PTNQPIP
PTLQVVP
PTLQAVP
PSLQPIP
PHPQAVP
PTLQPIP
NTLQPVP

ЦИБАКРОН СИНИЙ

GRWSKAE
SRWTRDS
RRYQPDS
RRAYEPE
RRFVSSE
RPYAPDA
WRSQNQG
YNRYRDV
RYRPPDV
WKNRMDG
YRRGSTE

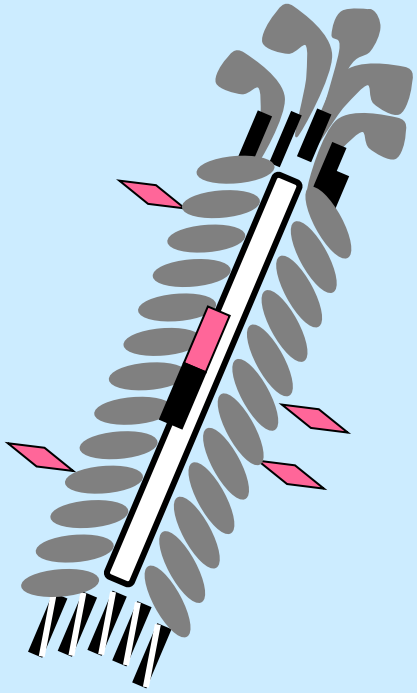


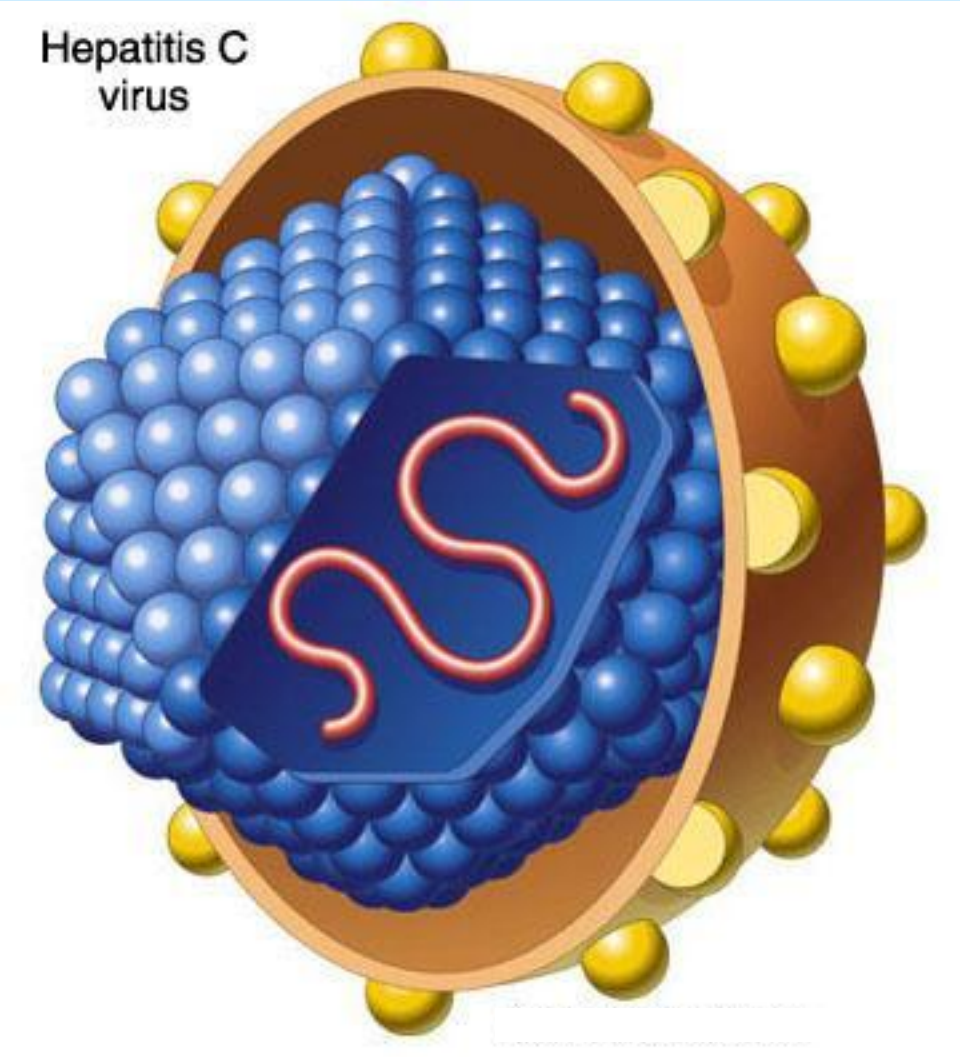


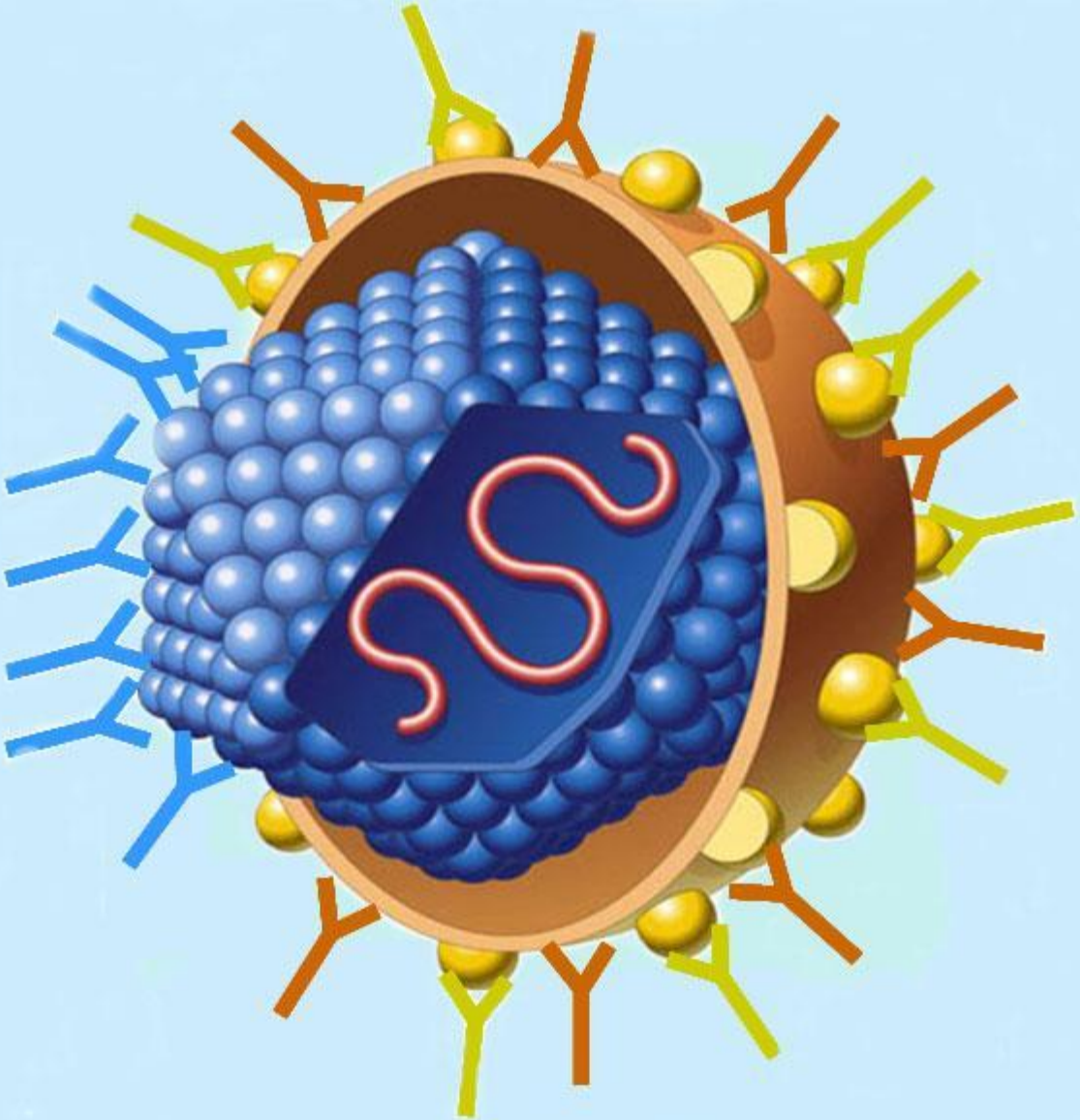
ЭВОЛЮЦИЯ ПЕПТИДНОЙ БИБЛИОТЕКИ

	КОНСЕНСУСНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ						
	1	2	3	4	5	6	7
РАУНД							
0	X	X	X	X	X	H(8.4)	X
1	N(5.4)	X	X	X	A(4.7) I(4.0) S(3.1)	I(6.7) L(4.0) M(4.0)	P(13.4)
2	N(8.6)	P(3.4)	G(3.4)	A(3.4)	A(5.2) P(3.4)	F(13.8) I(3.4)	P(14.6)

ДИСПЛЕЙ ПЕПТИДОВ ТИПА
8+8
фагмида + фаг-помощник

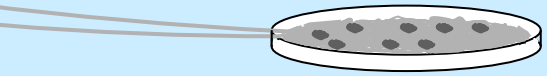



Hepatitis C
virus



РАЗРАБОТКА ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ HCV

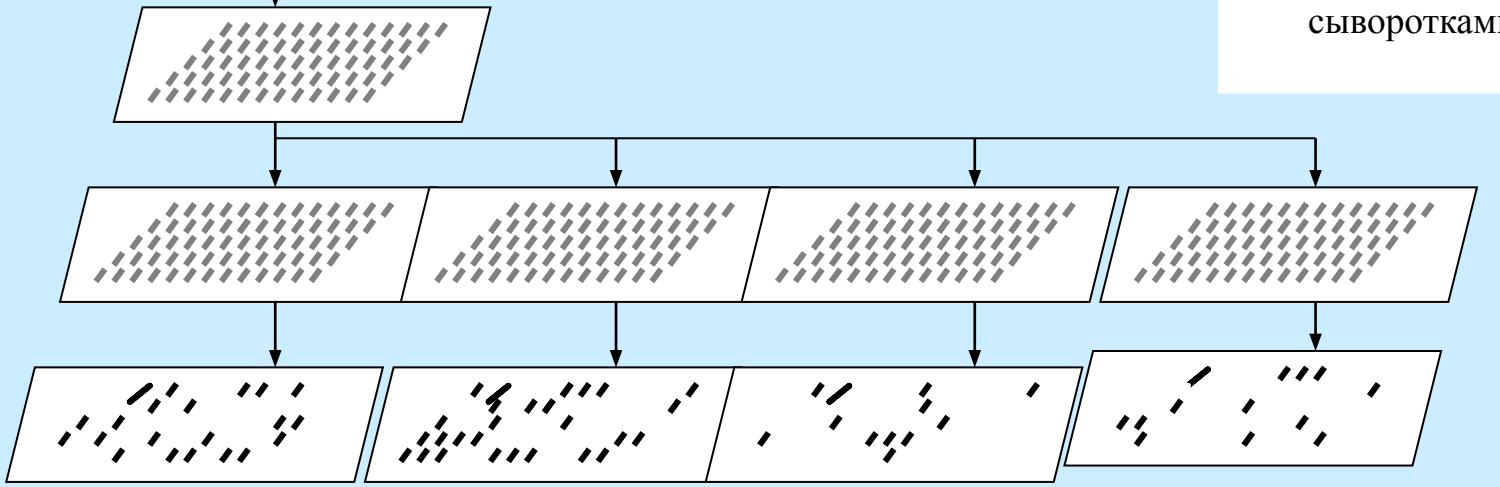
СЕЛЕКЦИЯ И ИММУНОСКРИНИНГ



иммуноскрининг с использованием смеси положительных сывороток

положительные клоны на чашке-матрице

иммуноскрининг с индивидуальными сыворотками



сыворотка 1

сыворотка 2

сыворотка 3

сыворотка 4

ИДЕНТИФИКАЦИЯ НОВЫХ ЛИГАНДОВ ДЛЯ HCV-СПЕЦИФИЧЕСКИХ АНТИТЕЛ

```
  R A T L S N E H G I T I
D Q R E N W F K Y H G F
E W R R Y M S D I H G Y
D S L R Y M Y V M P G F
  S R E Q L N K L F G I E
```

клоны фагов	сыворотки пациентов, зараженных вирусом HCV																															
	C8	C10	C12	C13	C15	C18	C19	C20	C22	C24	C25	C27	C28	C29	C30	C39	C40	C45	C47	C48	C57	C58	C60	C61	C62	C65	C73	C74	C76	C83	C85	C141	C177
PA1																											*					*	*
PA3																											*					*	*
PA8																											*					*	*
PA18																											*					*	*
PA12																											*					*	*

очищенные антитела	клоны фагов					
	PA1	PA3	PA8	PA12	PA18	WT
C65/A1						
C65/A3						
C65/A8						
C65/A12						
C65/A18						
C65						

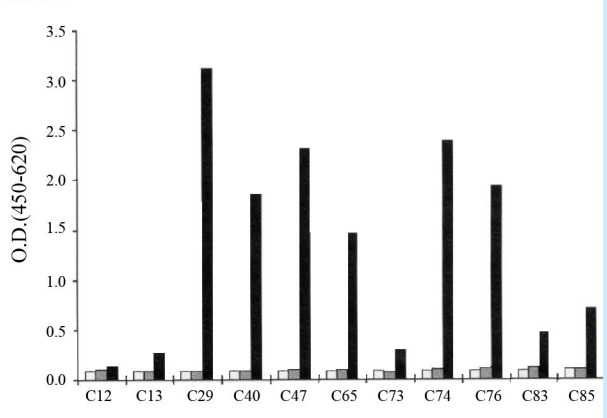
Значение O.D.

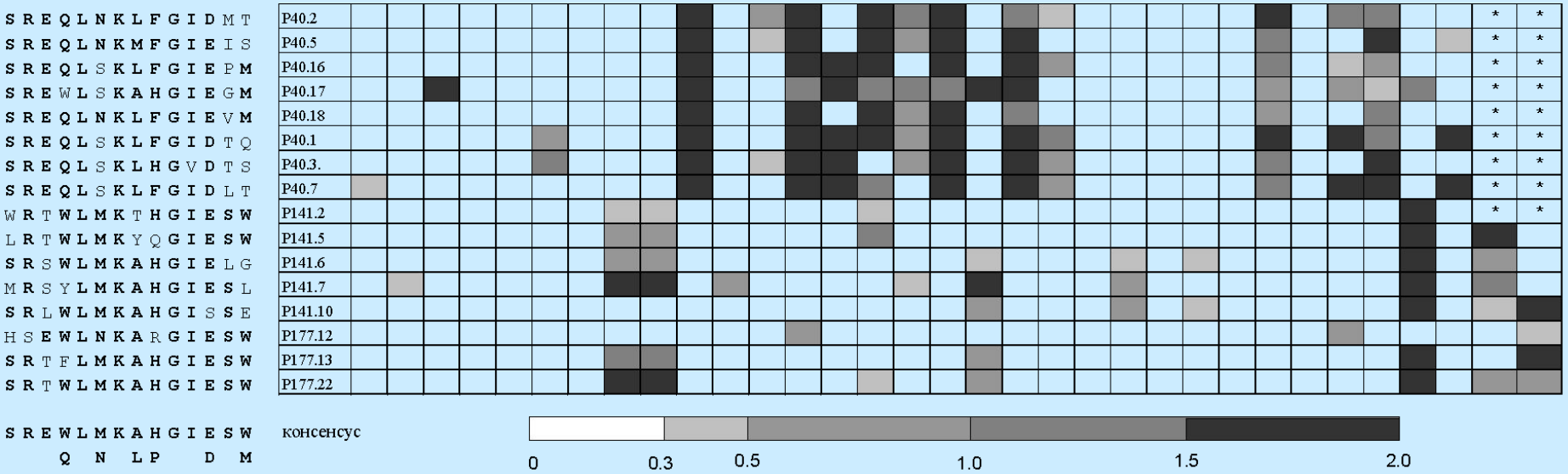
0 0.3 0.5 1.0 1.5 2.0

АФФИННОЕ СОЗРЕВАНИЕ КЛОНА PA12

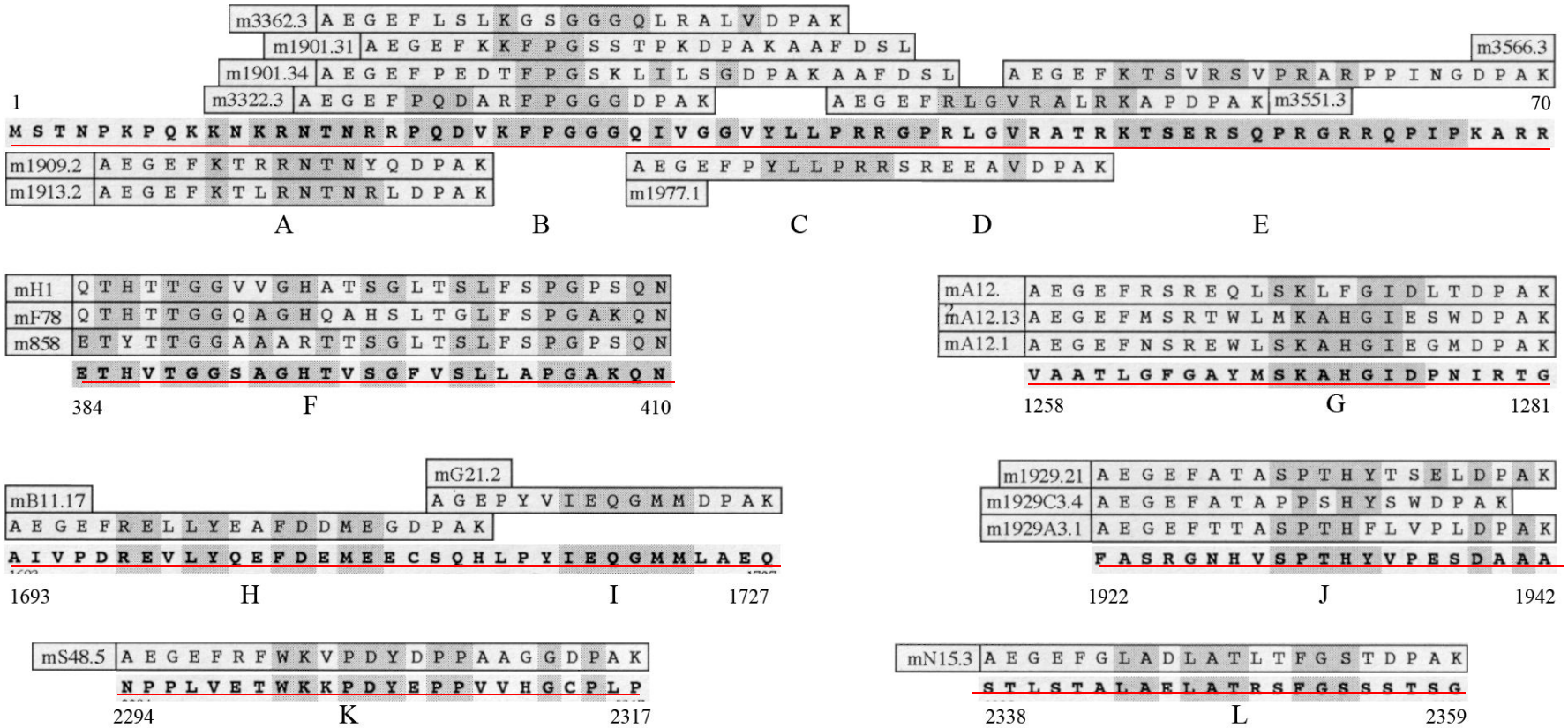
PA12 S R Q L N K L F G I E

Библиотека S* R* Q* L* N* K* L* F* G* I* E* N N

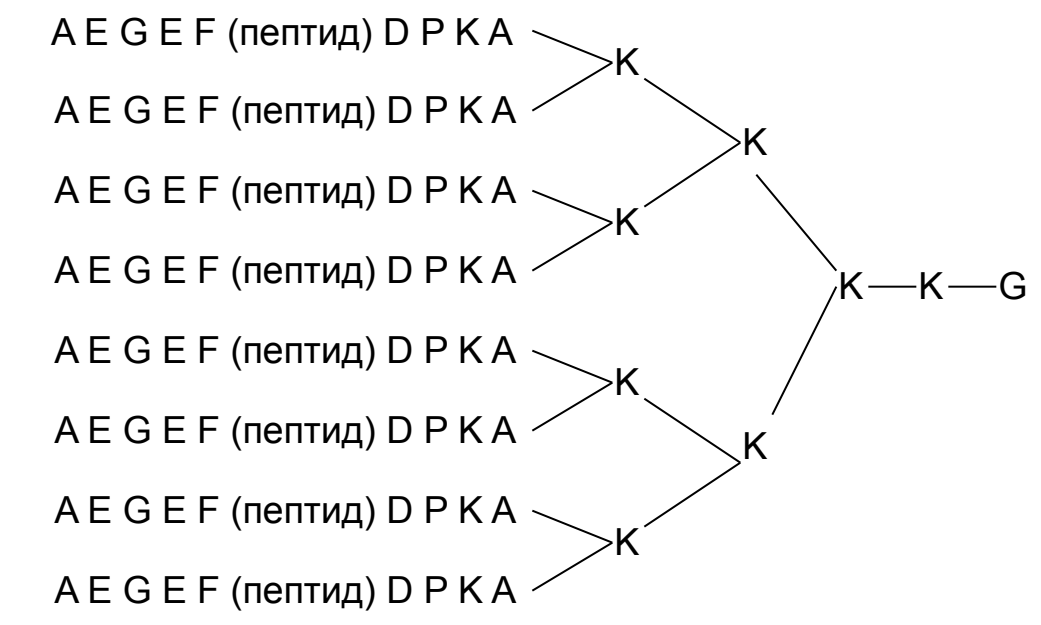




ФАГОВЫЕ ПЕПТИДЫ

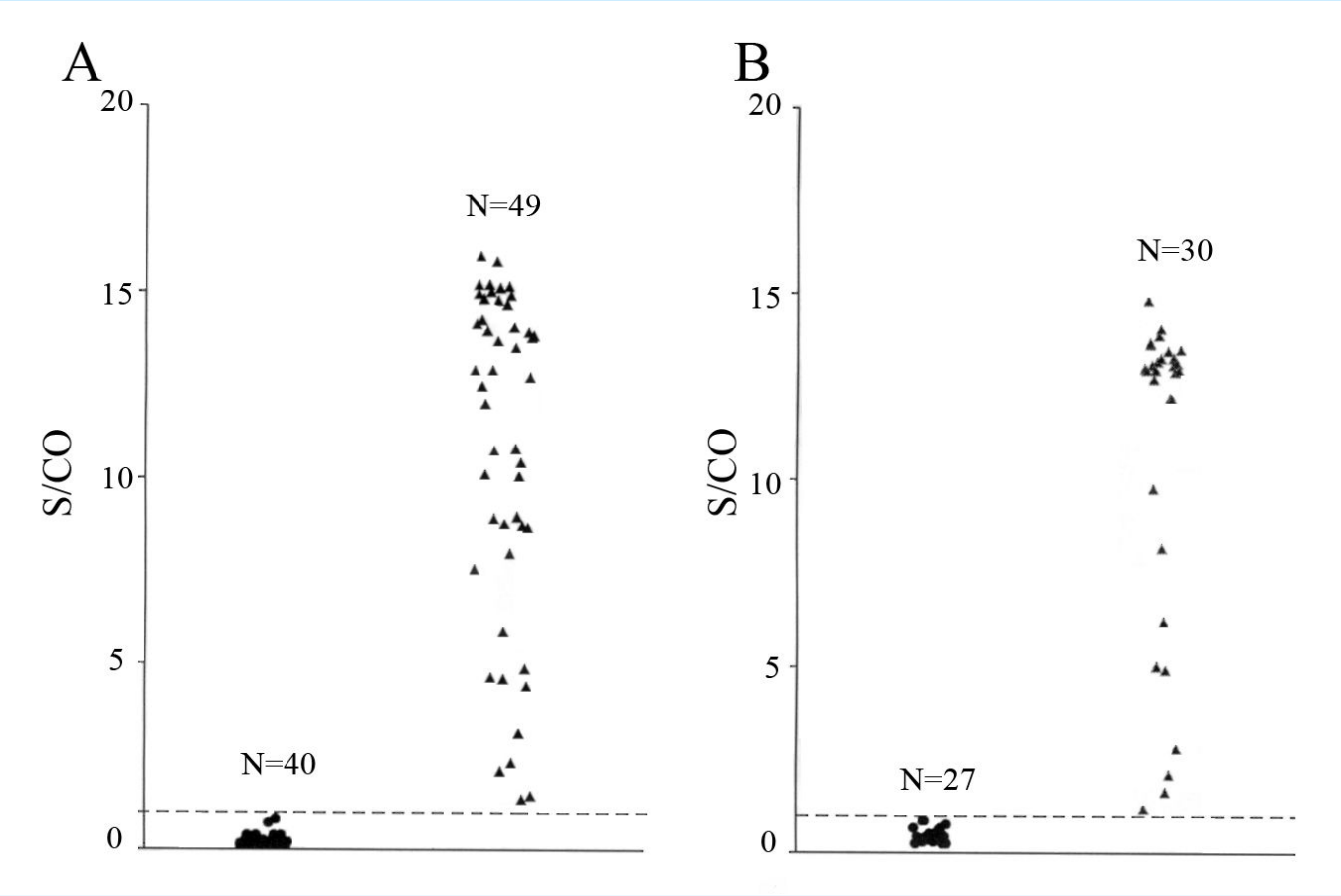


ОТ ФАГОВЫХ ПЕПТИДОВ К СИНТЕТИЧЕСКИМ

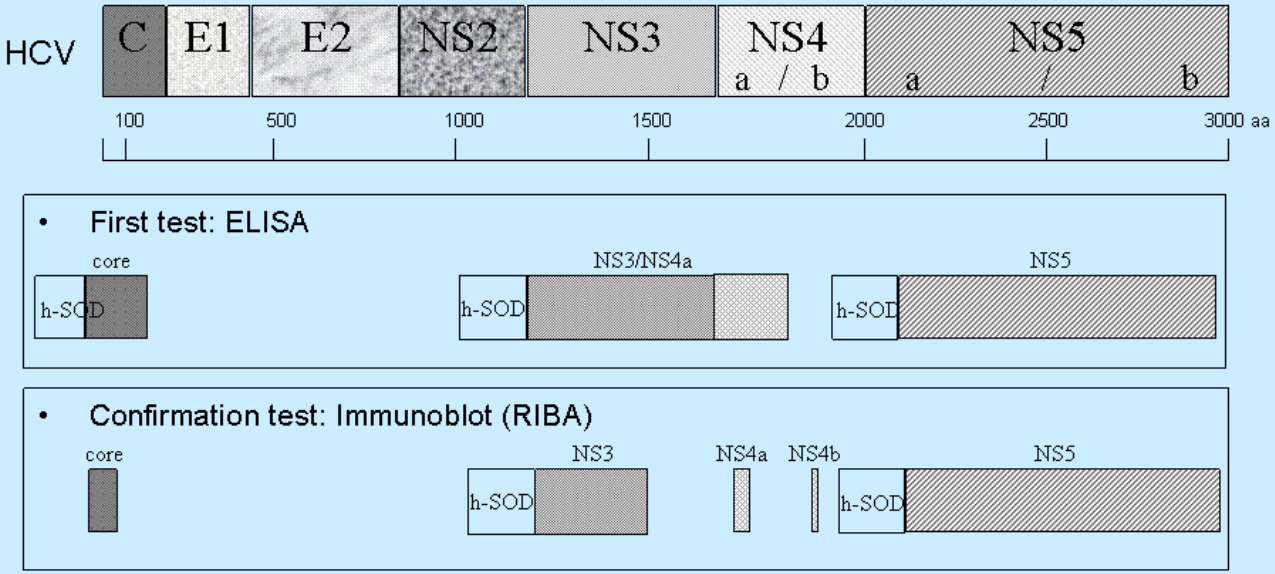


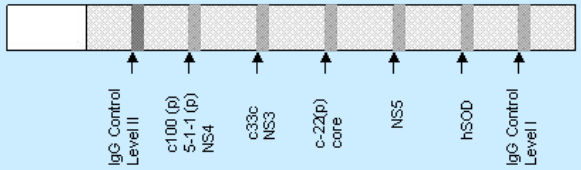
MAP – Multiple Antigenic Peptide

ОТ ФАГОВЫХ ПЕПТИДОВ К СИНТЕТИЧЕСКИМ

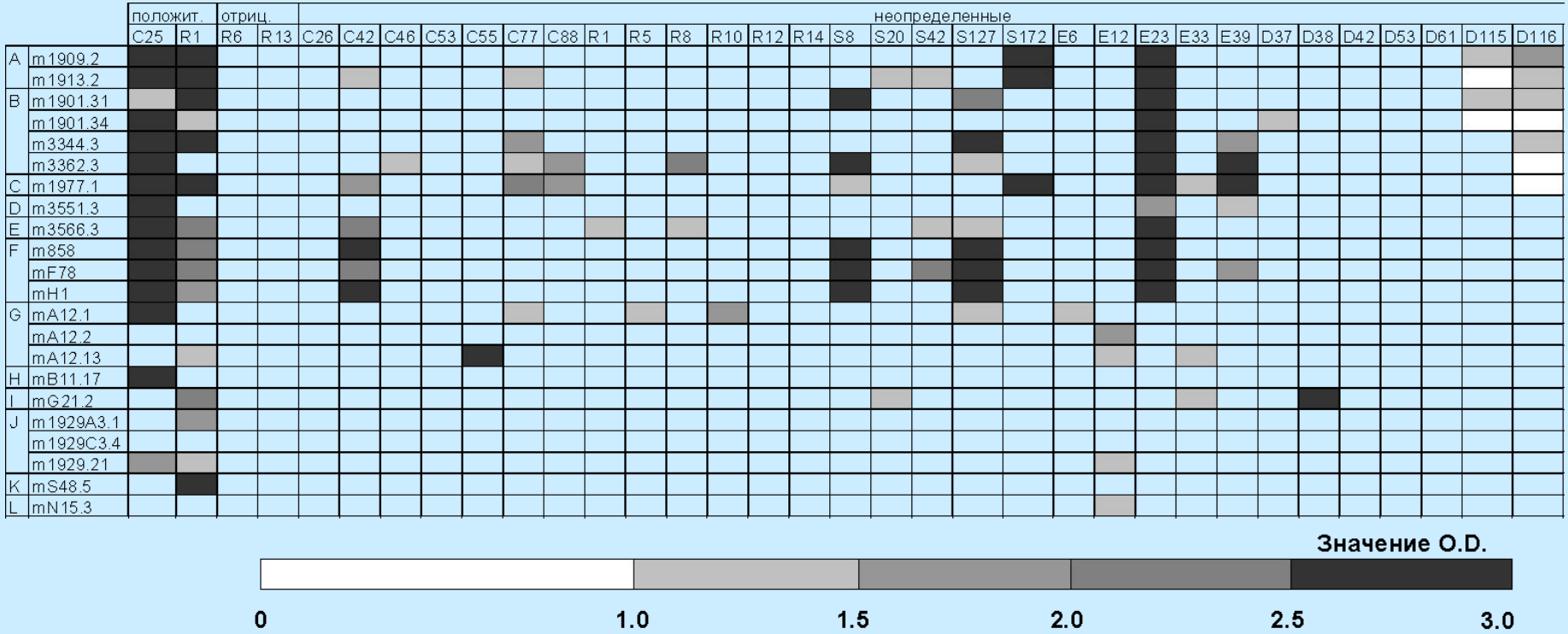


КОММЕРЧЕСКИЕ ТЕСТ-СИТЕМЫ



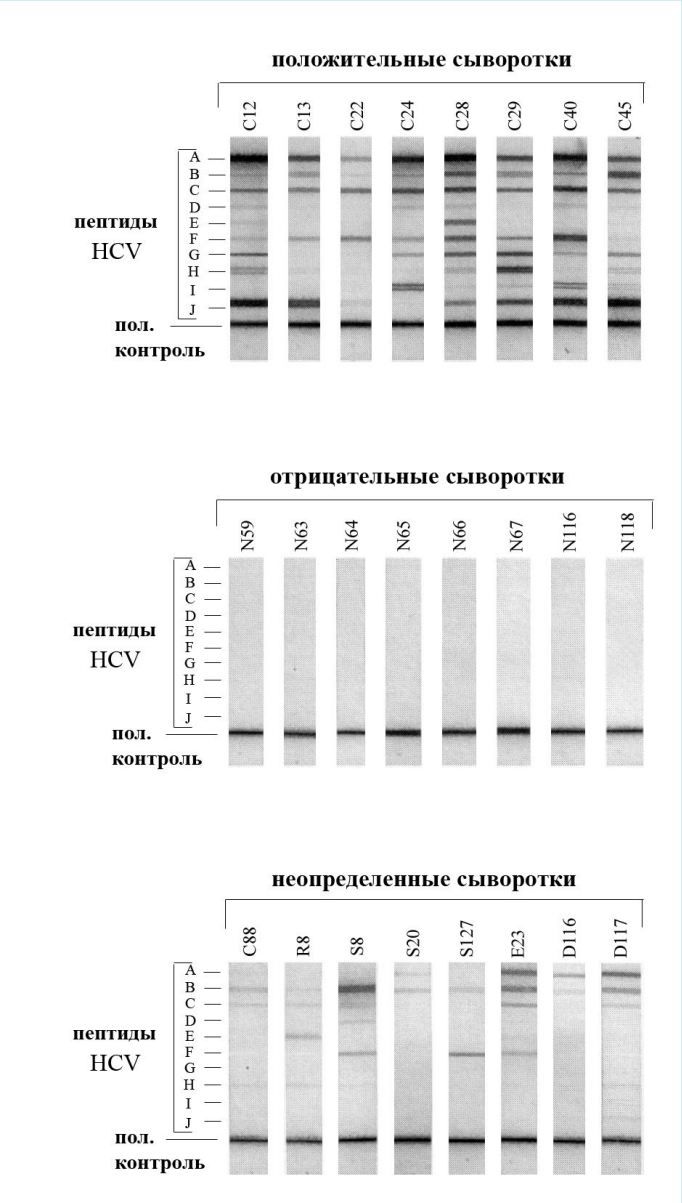


НЕОПРЕДЕЛЕННЫЕ СЫВОРОТКИ



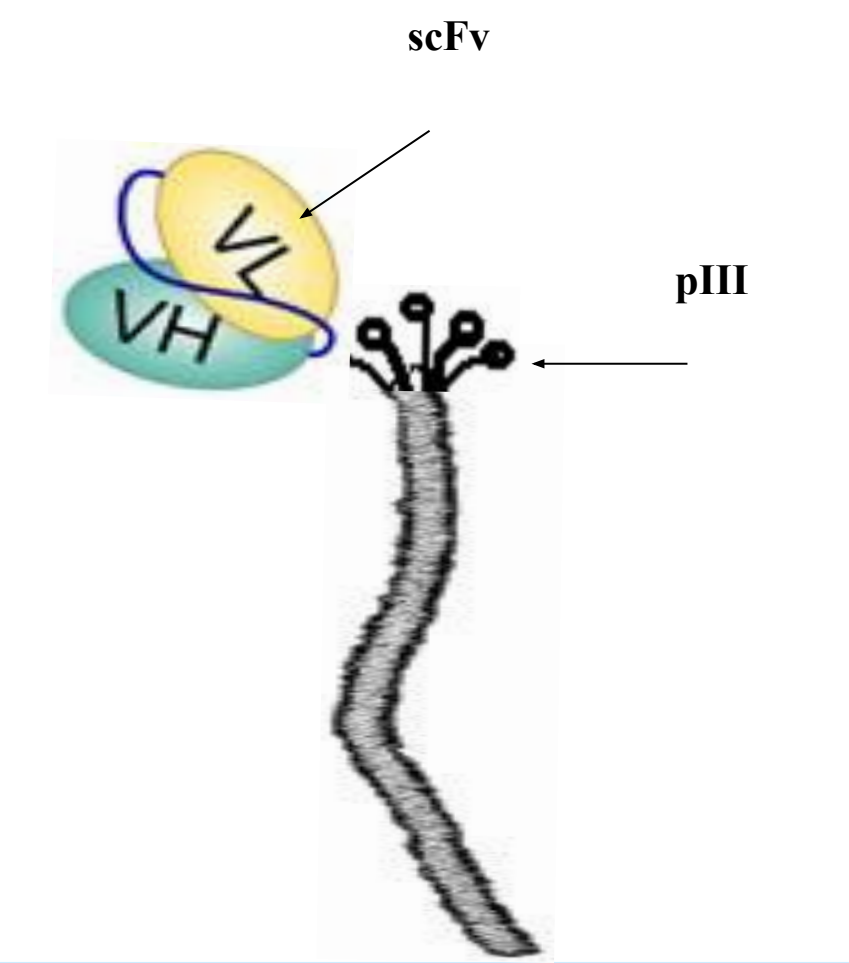
6 сывороток – 0
8 сывороток – 1 пептид
7 сывороток – 2 группы пептидов
10 сывороток – множественная реактивность

НЕОПРЕДЕЛЕННЫЕ СЫВОРОТКИ



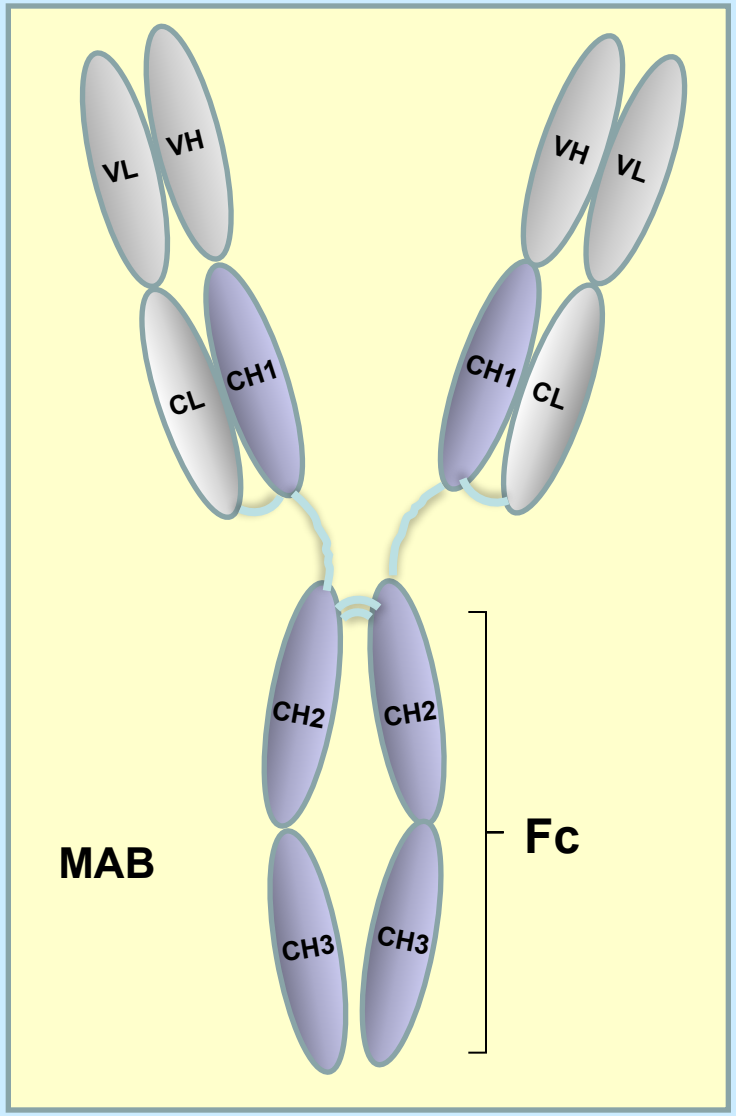
На найлоновой мембране иммобилизованы следующие пептиды, разделенные на 10 групп, согласно их специфичности: (A): m1909.2 и m1913.2; (B): m1901.31, m3323.3 и m3362.3; (C): m1977.1; (D): m3551.3; (E): 3566.3; (F): m858, mF78 и mH1; (G): mA12.1, mA12.2 и mA12.13; (H): mB11.17; (I): mG21.2; (J): m1929A3.1, m1929C3.4 и m1929.21. Дополнительная линия содержит очищенные человеческие иммуноглобулины в качестве внутреннего положительного контроля.

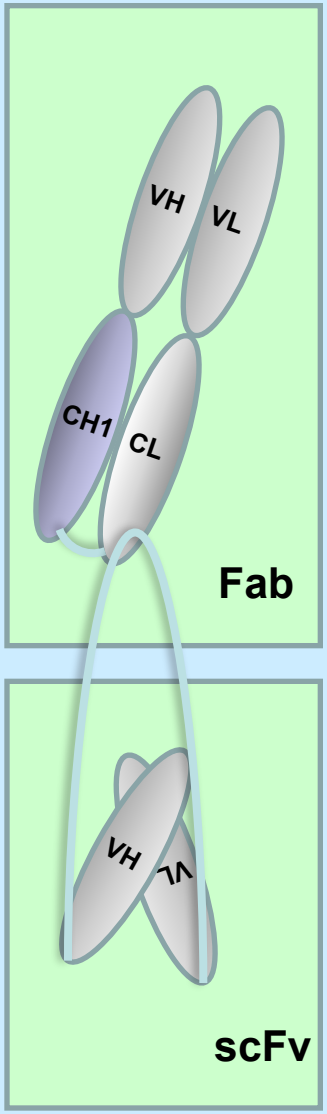
ДИСПЛЕЙ АНТИТЕЛ



нитчатый фаг

ДИСПЛЕЙ АНТИТЕЛ





источник человеческих клеток

↓

мРНК

↓

кДНК

↓

специфическая PCR для амплификации VH и VL

↓

клонирование в фаговом векторе

↓

электропорация компетентных клеток

↓

наработка фага с использованием фага помощника

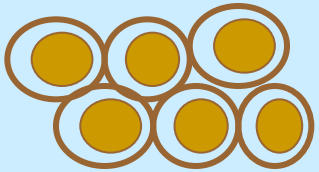
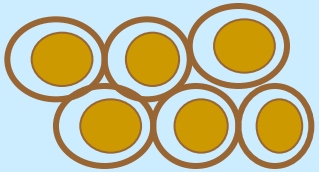
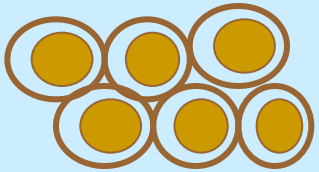
ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ, БИБЛИОТЕКИ

Качество библиотеки зависит от:

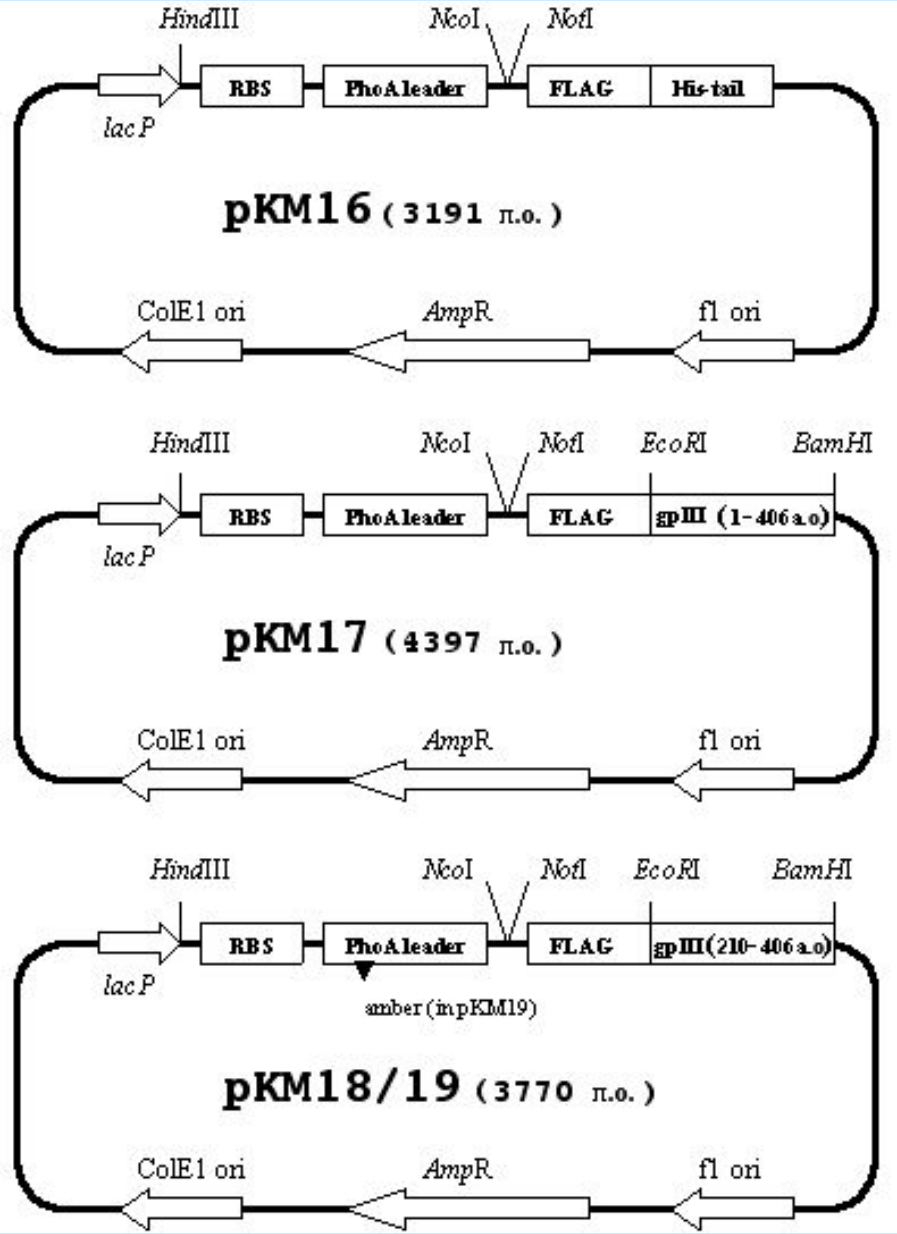
a. размера библиотеки
b. разнообразия
c. источника генов Ig

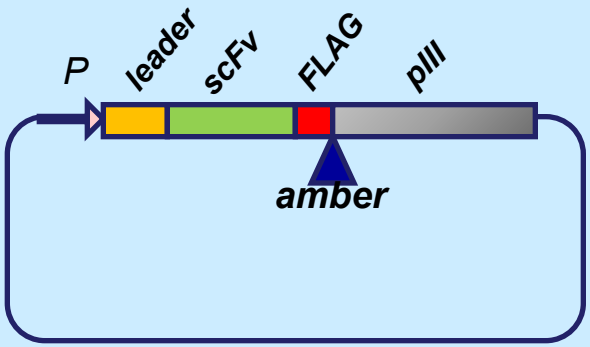
Источник генов Ig:

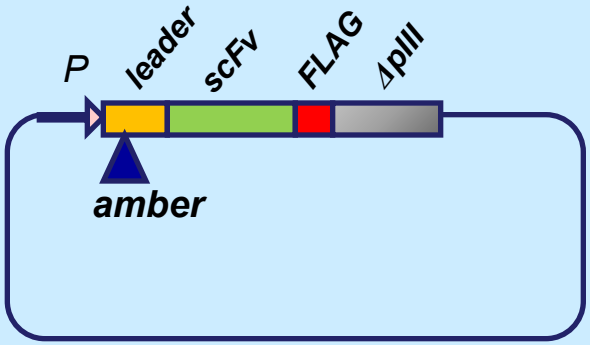
лимфоциты периферической крови (PBL)
селезенка
костный мозг
околоопухолевые лимфатические узлы(TDLN)
отдельные гены антител (синтетические библиотеки)
лимфоциты инфильтрированные в опухоль (TIL)

	PBL	TDLN	TIL
			
клональность	**< 1/20.000**	**7%**	**18-78%**

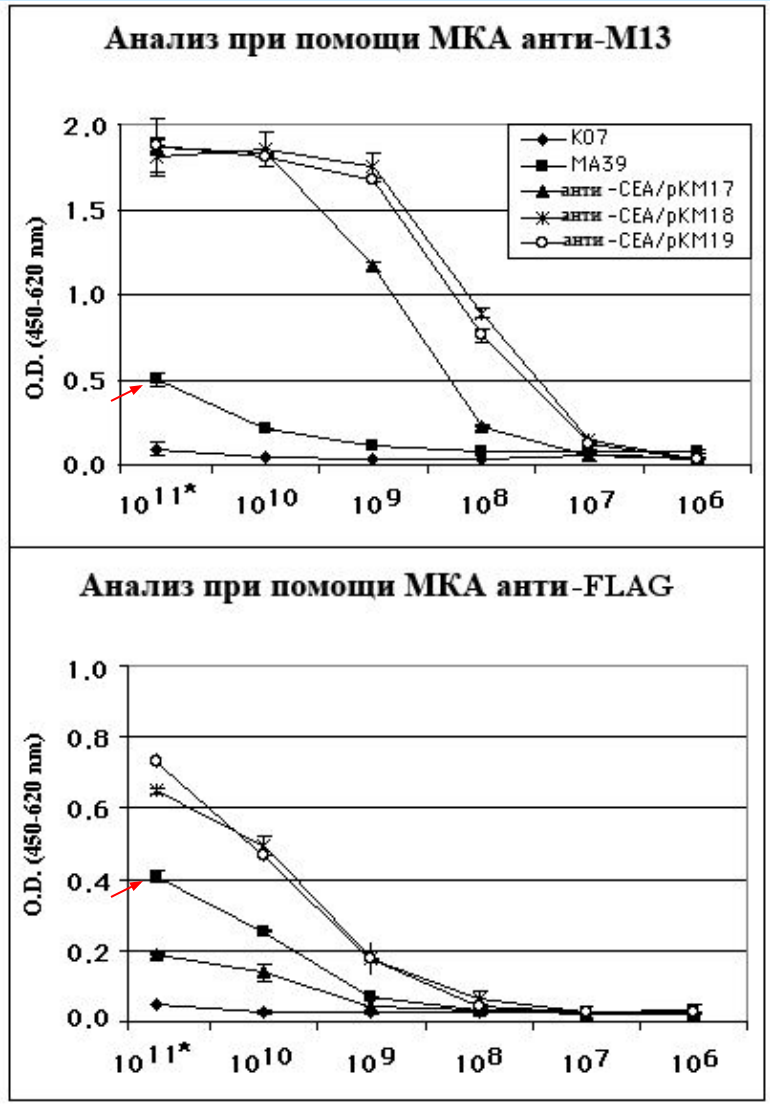
ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ

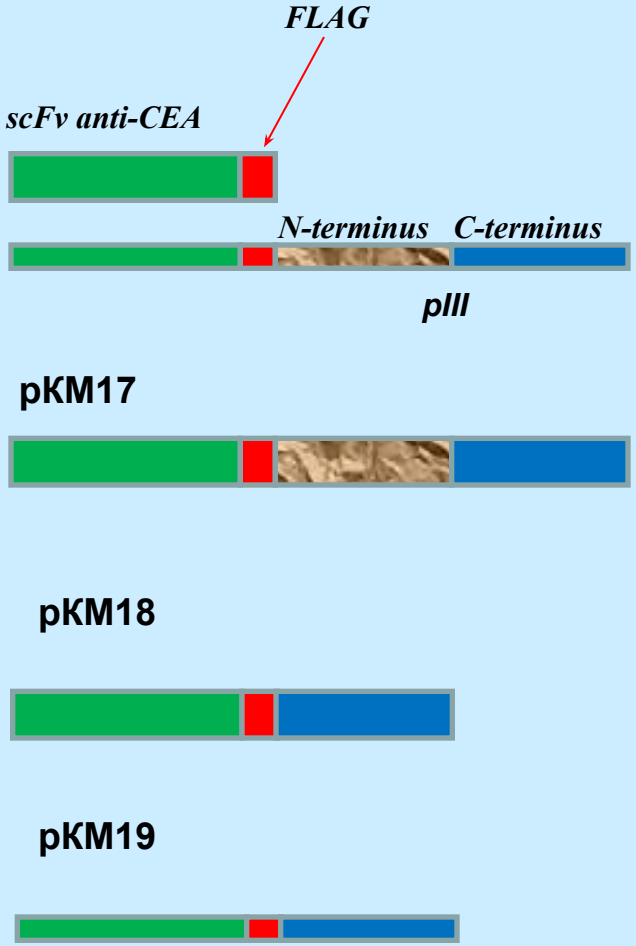




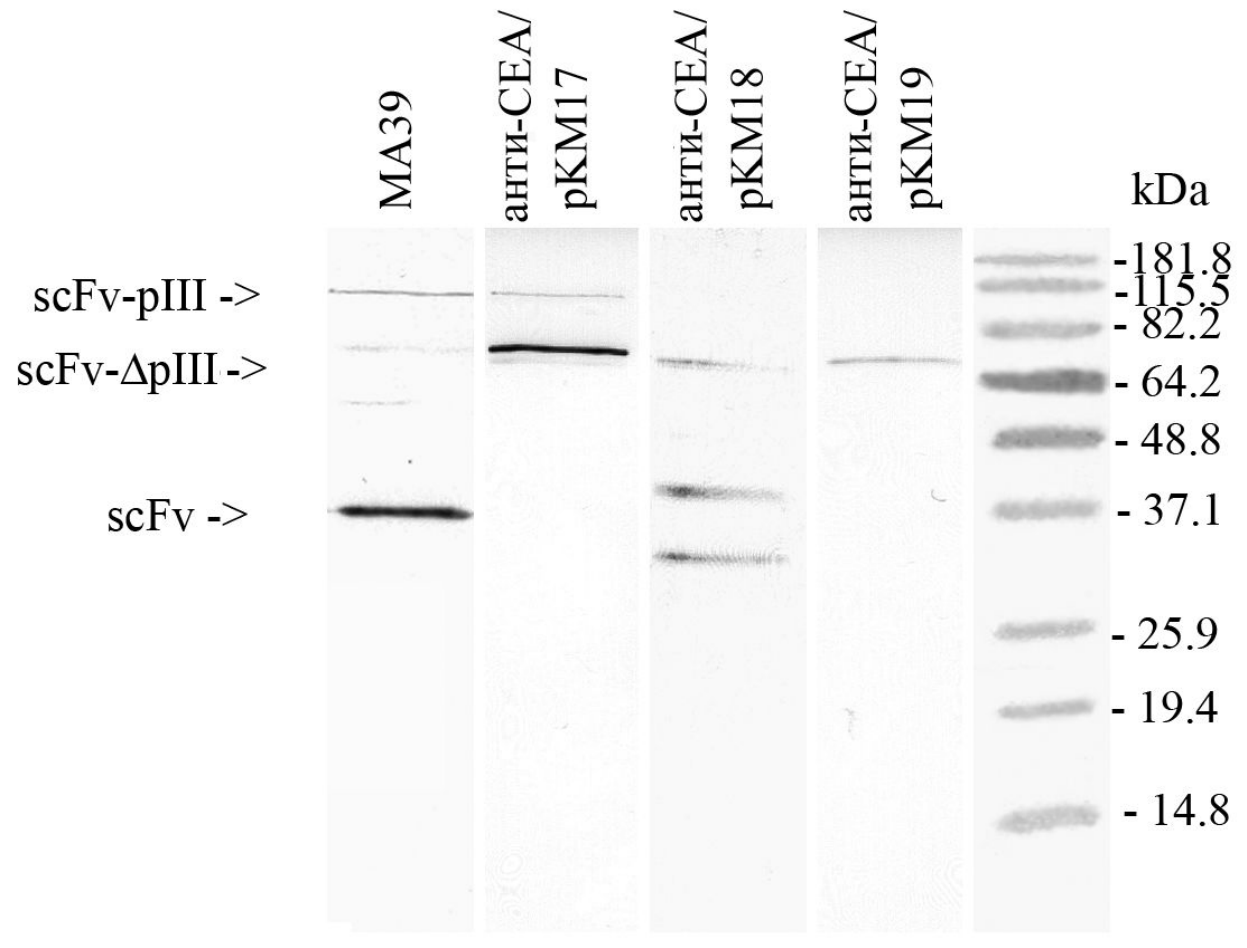


ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ





ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ



ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ

Антитела, происходящие из TIL-B способны узнавать раковые клетки

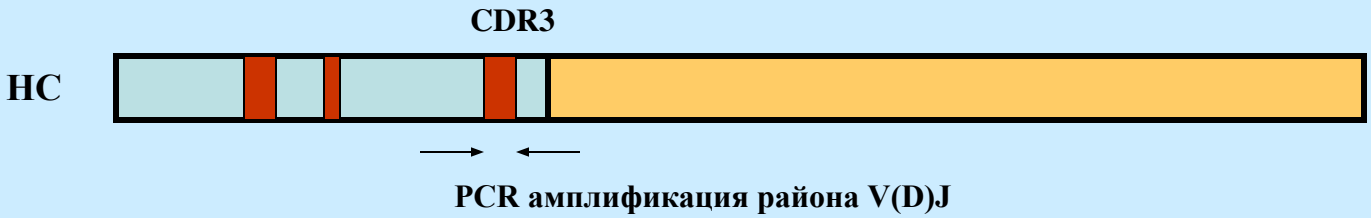
1. Production of human hybridomas, obtained from TIL, able to secrete tumor-specific antibodies [Sikora K et al., Lancet 1982; Sikora K et al., Br.J.Cancer 1983];

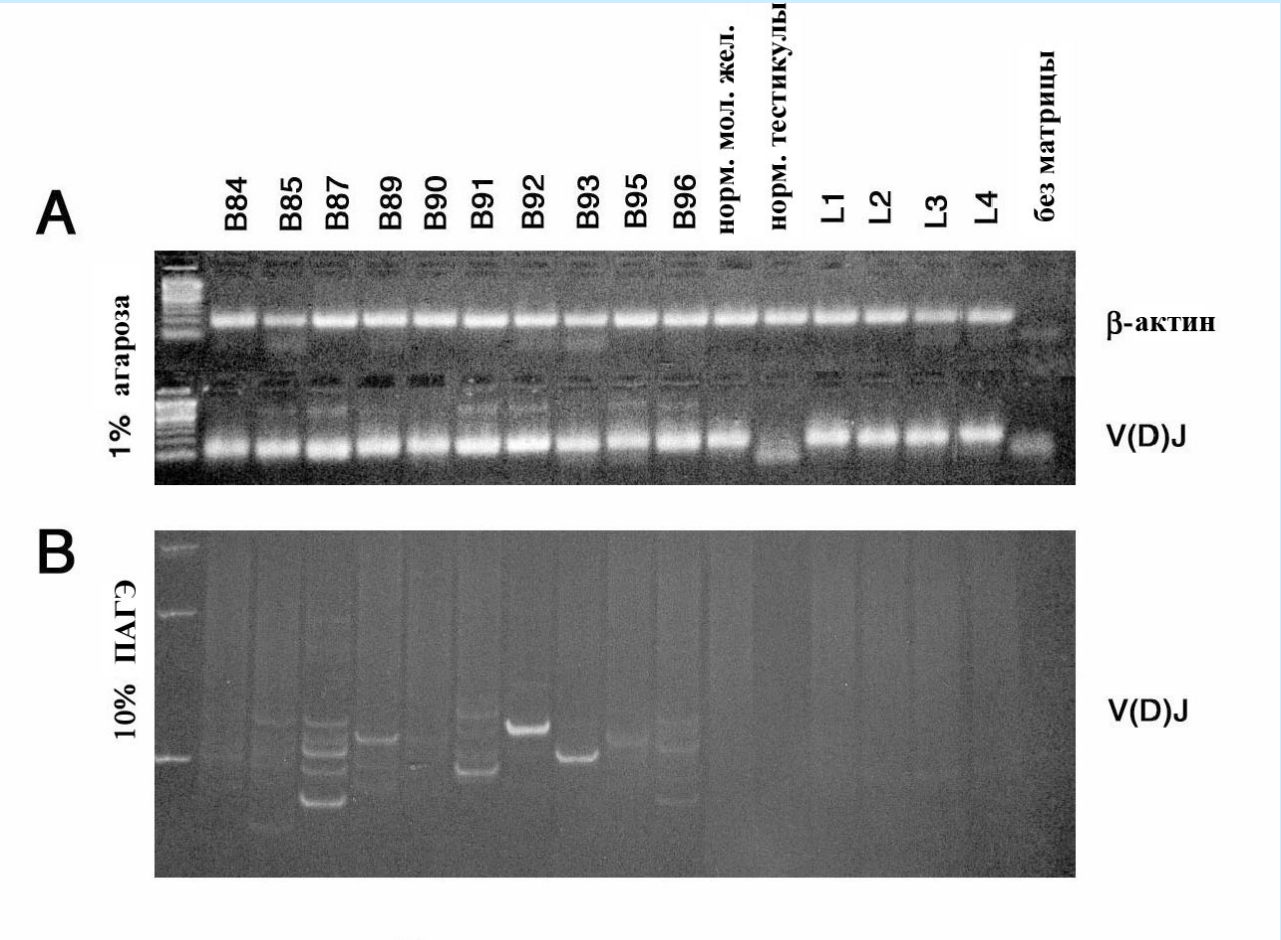
2. B cell expansion of TIL from human tumor biopsies [Punt CJA et al., Cancer Immunol. Immunother. 1994];

3. B cell expansion of melanoma-derived TIL and following cloning the scFv antibody from single B cell clone with specific melanoma reactivity [Zang H et al., Cancer Res. 1995];

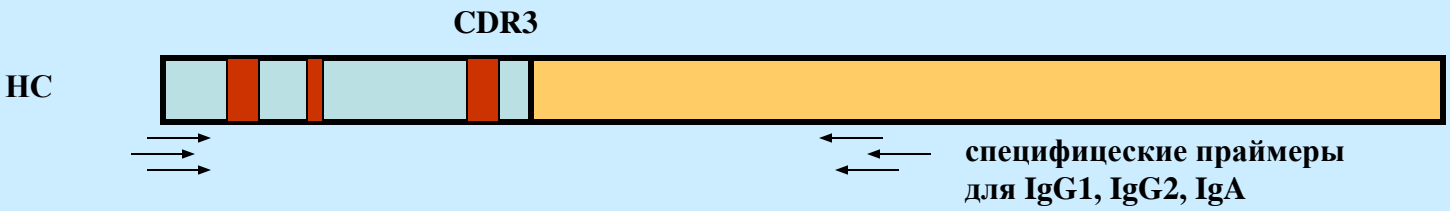
4. Subcutaneous transplantation of human lung cancer tissue in immunodeficient mice producing human antibodies derived from TIL-B, which recognized two tumor-specific proteins [Imahayashi S et al., Cancer Invest. 2000; Yasuda et al., Cancer Res. 2002]

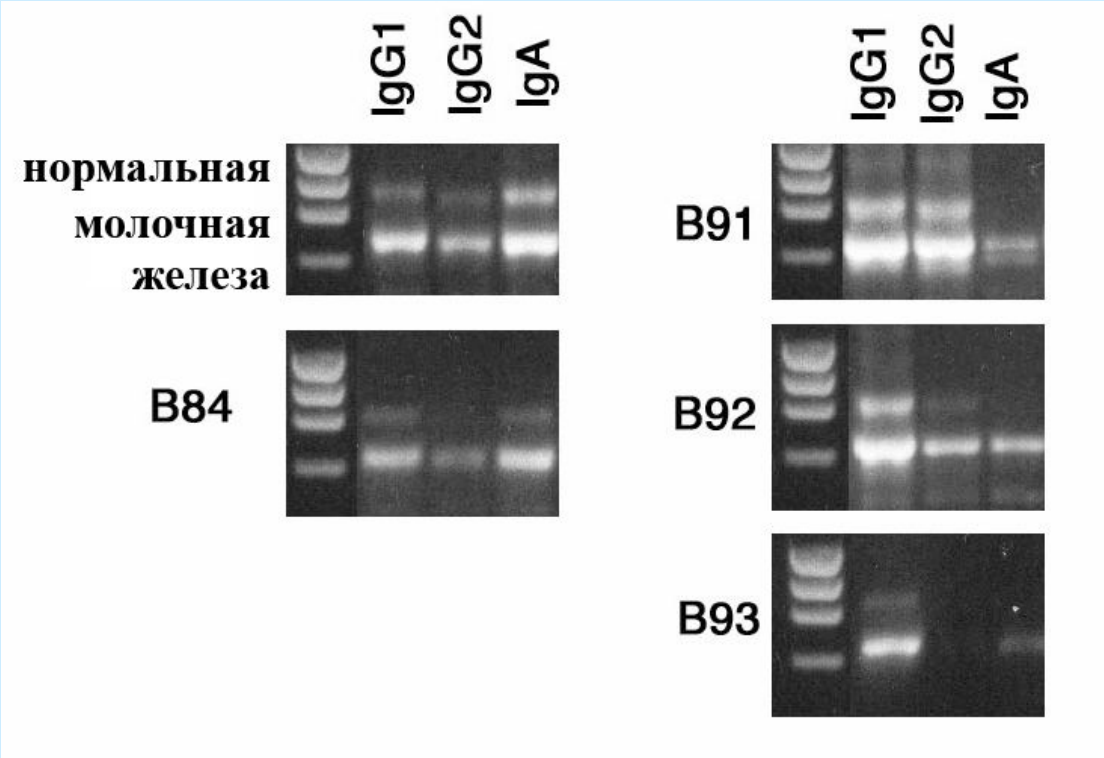
ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ



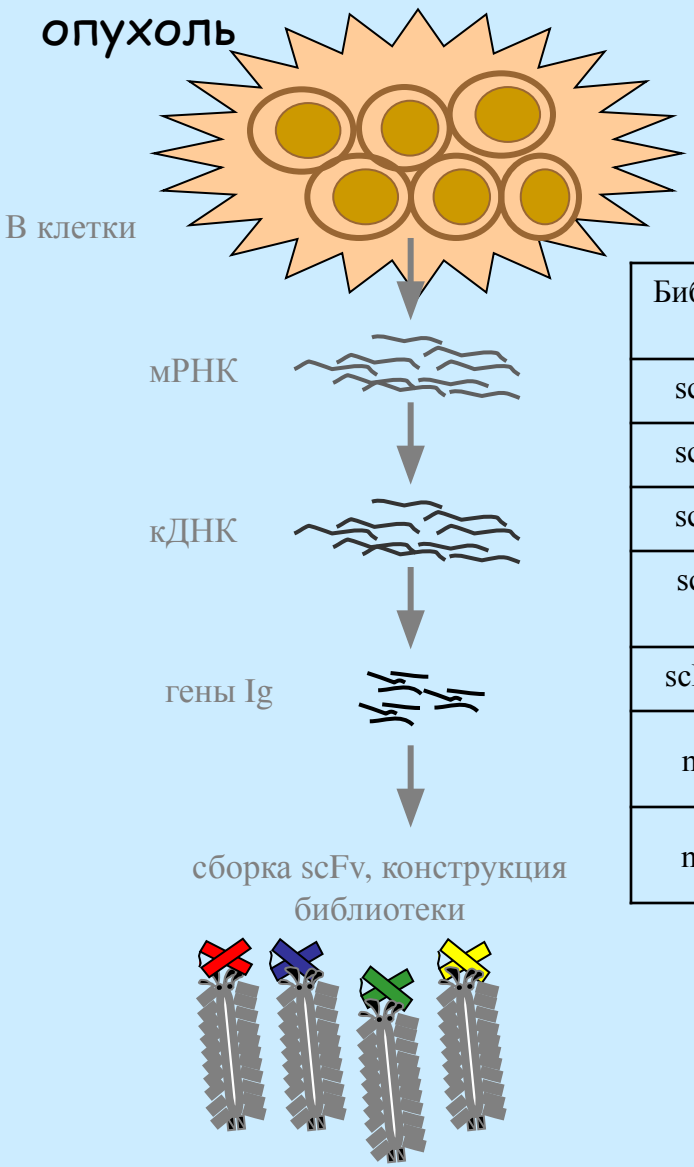


ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ



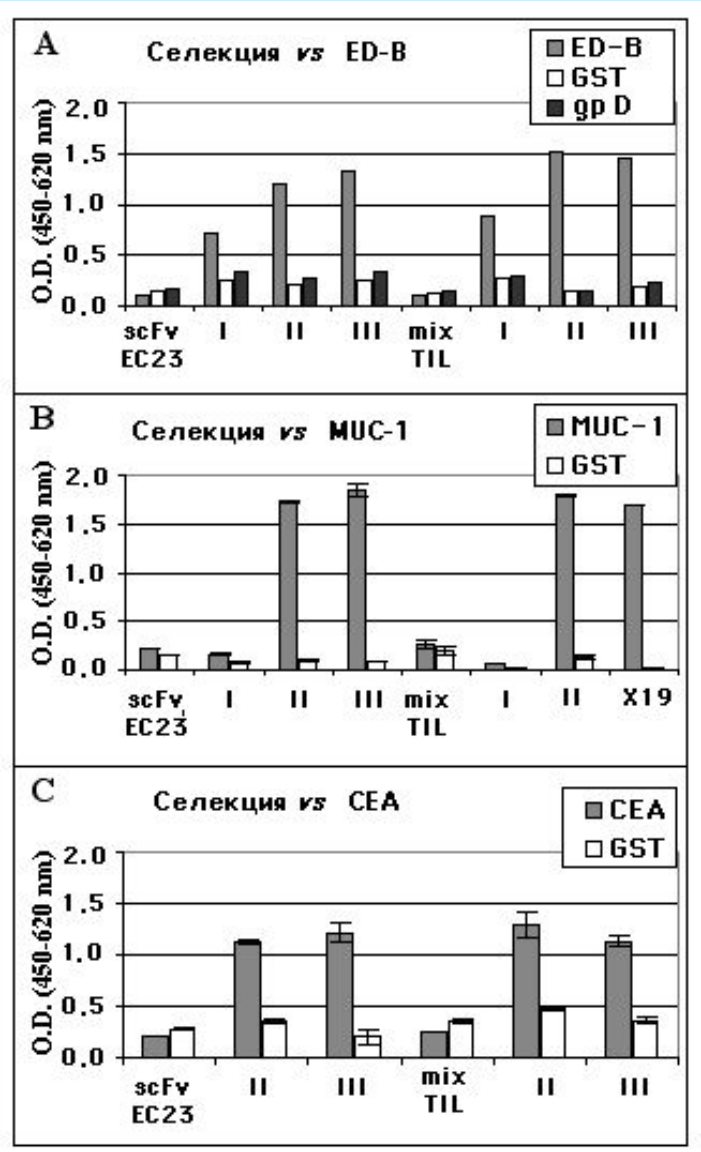


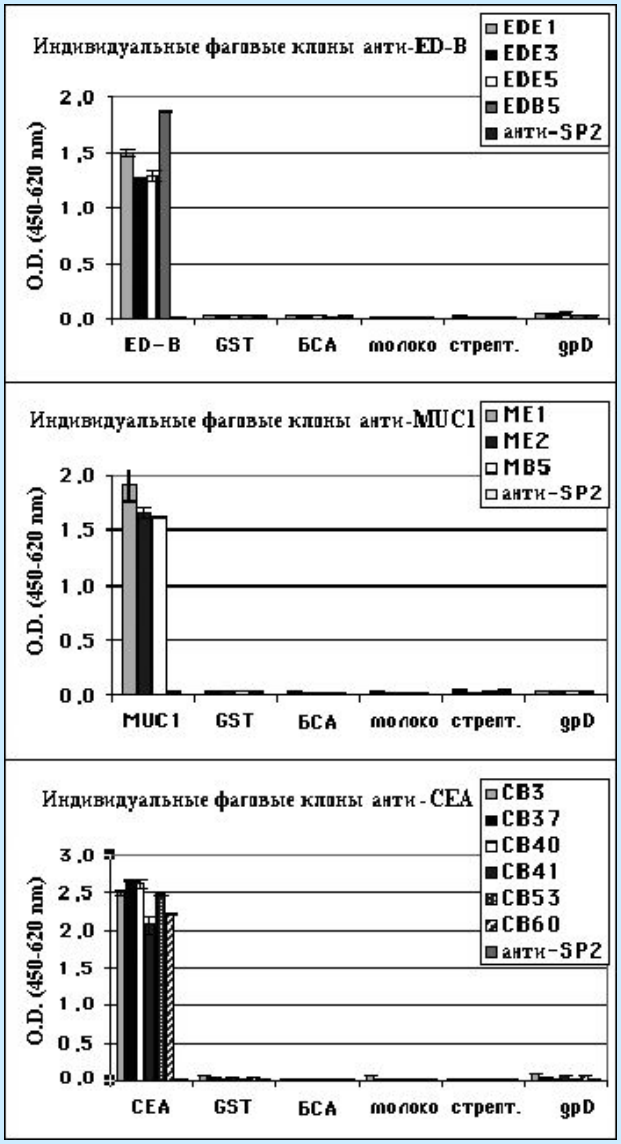
ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ



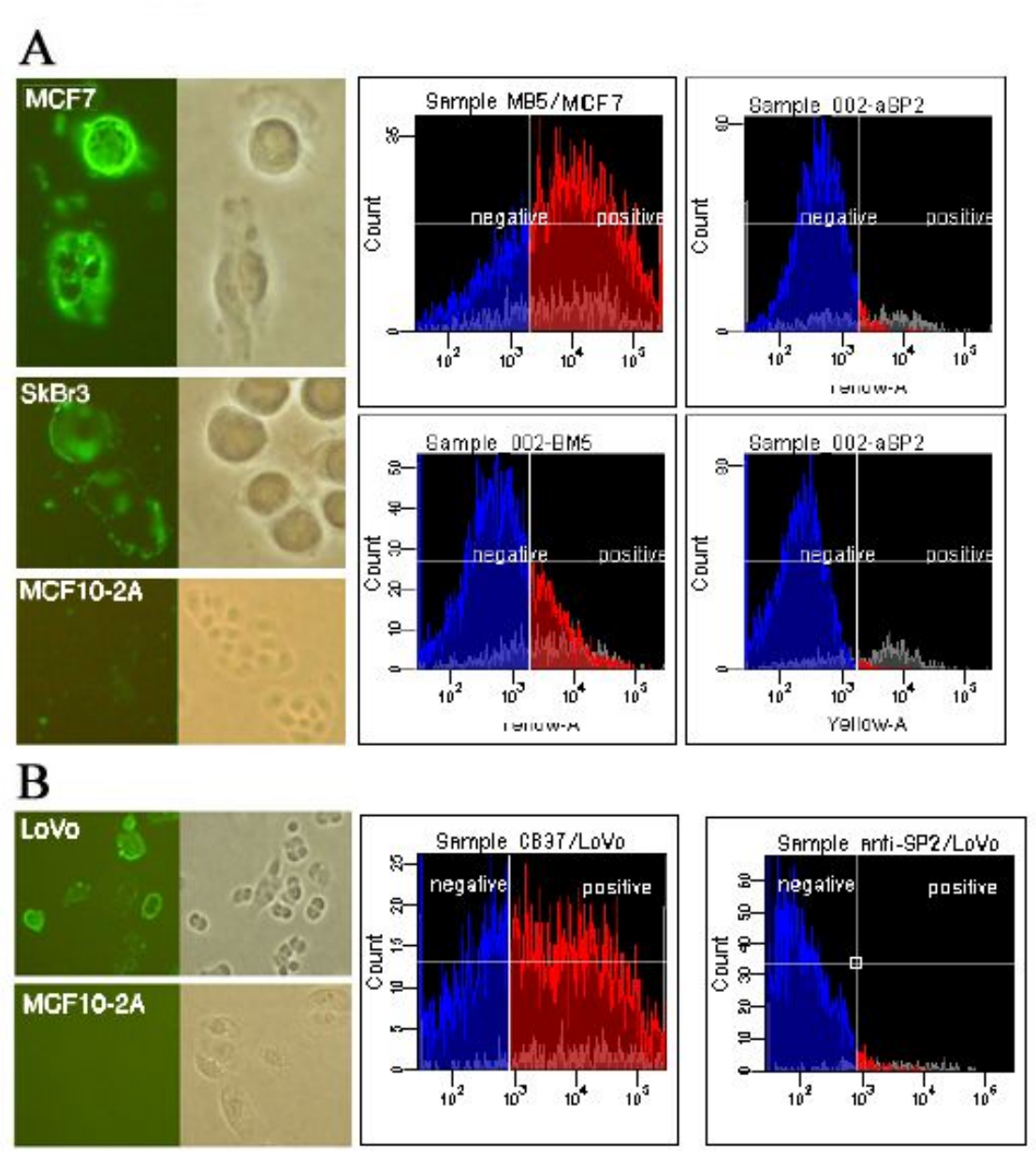
Библиотека	Источник генов иммуноглобулинов	Пациент (возраст)	Размер библиотеки
scFvB87	TIL	B87 (55)	$4.7x10^5$
scFvB95	TIL	B95 (73)	$1.1x10^7$
scFvB96	TIL	B96 (72)	$2.6x10^7$
scFvmix	TIL	B85 (47), B91 (70), B92 (79), B93 (66)	$2.4x10^7$
scFvEC23	PBL	EC23 (65)	$1.8\ x10^7$
mixTIL	TIL	-	ScFvB87 + ScFvB95 + ScFvB96 + ScFvmix
mixLIB	TIL+PBL	-	ScFvB87 + ScFvB95 + ScFvmix + ScFvEC23

ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ
СЕЛЕКЦИЯ НА ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНАХ





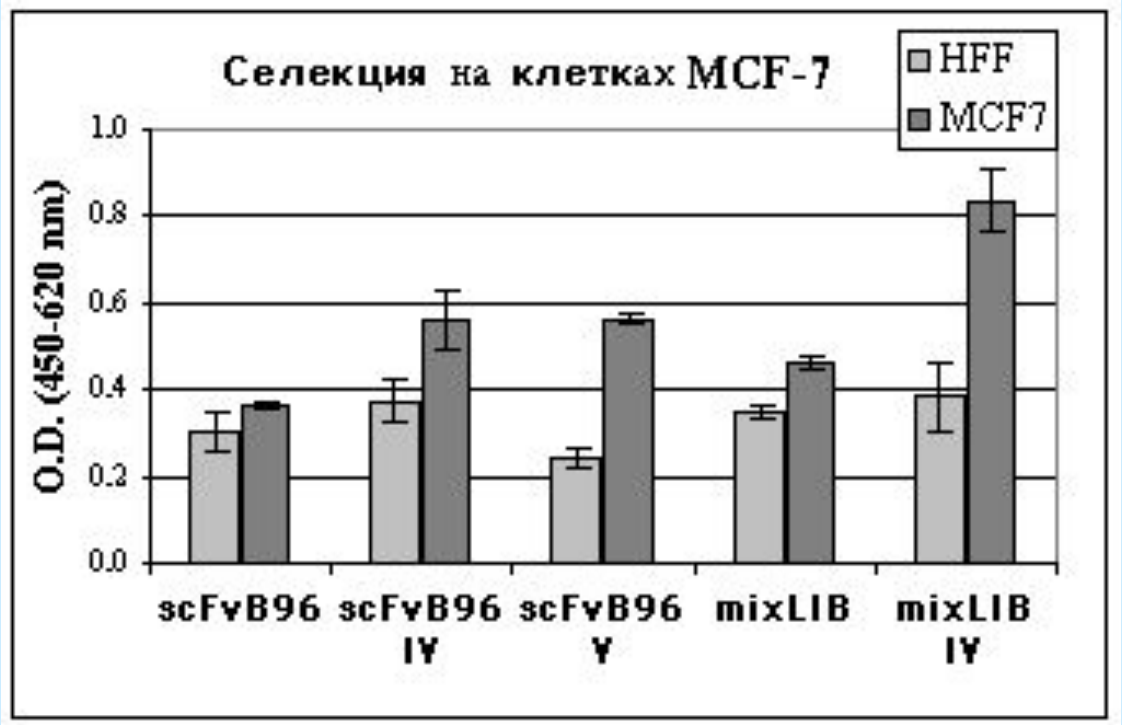
ДИСПЛЕЙ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ



АНТИ-MUC1 MB5

АНТИ-CEA CB37

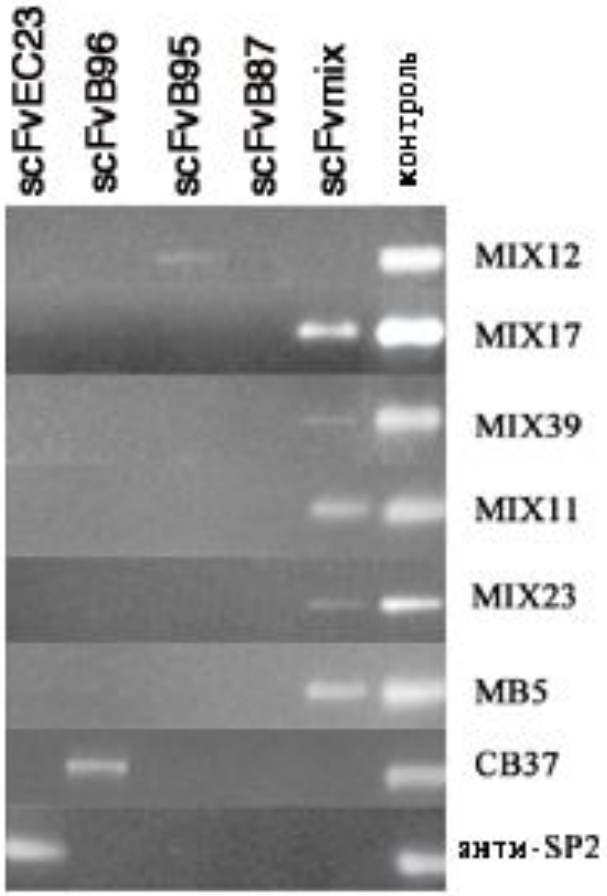
Селекция антител на клетках MCF7



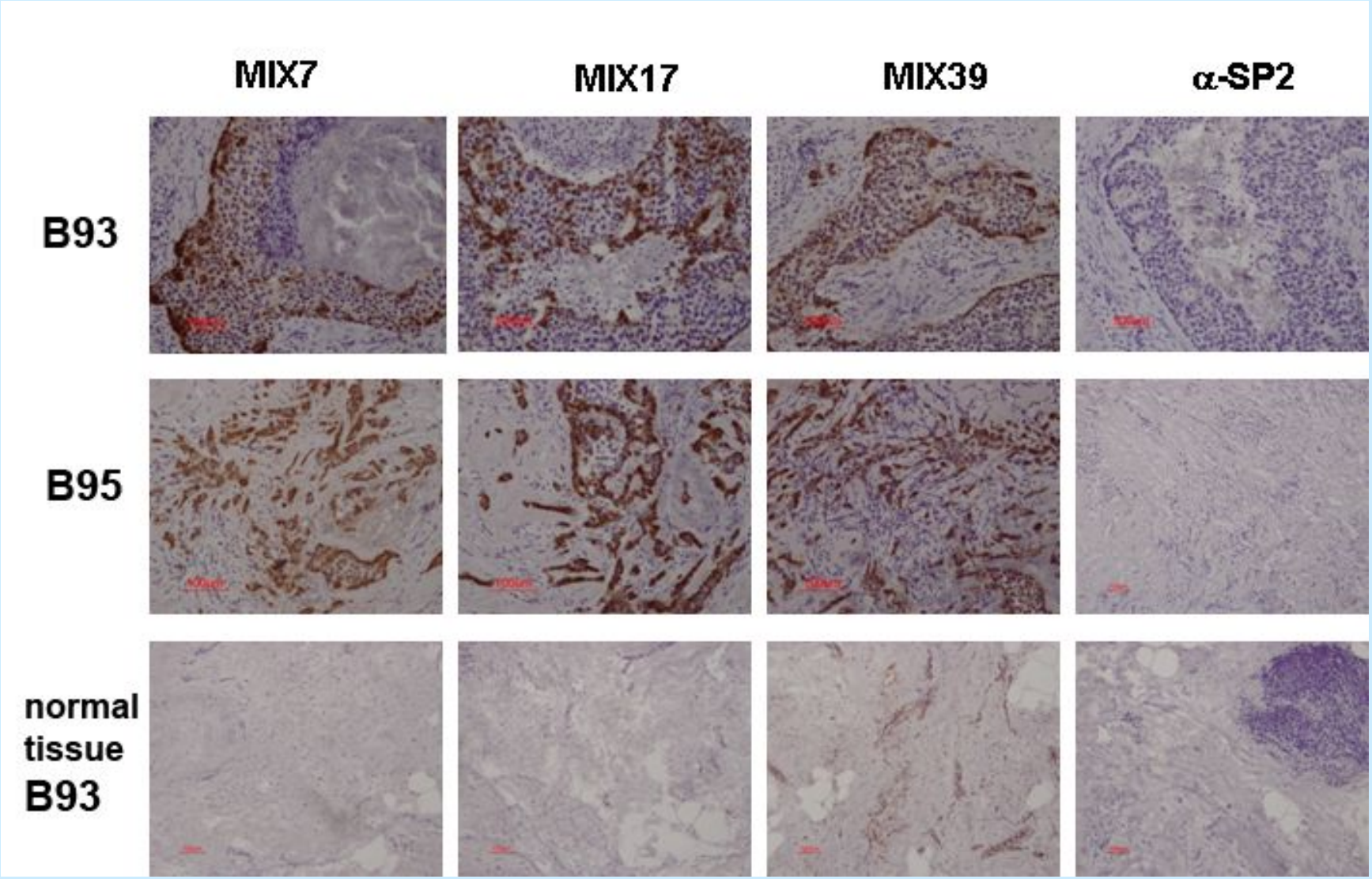
Селекция антител на клетках MCF7

клоны	MCF7	MDA-MB-468	MCF10-2A	HFF
MIX 7	0,490	0,383	0,192	0,119
MIX 8	2,241	1,149	0,548	0,462
MIX 11	0,424	0,507	0,350	0,254
MIX 12	0,673	0,414	0,291	0,282
MIX 17	0,606	0,435	0,179	0,118
MIX 23	0,585	0,393	0,223	0,157
MIX 25	0,622	0,382	0,318	0,236
MIX 39	1,527	0,671	0,237	0,168
B96/4F	0,497	0,376	1,711	0,222
B96/11L	1,148	0,501	0,206	0,142
анти-SP2	0,138	0,198	0,186	0,113

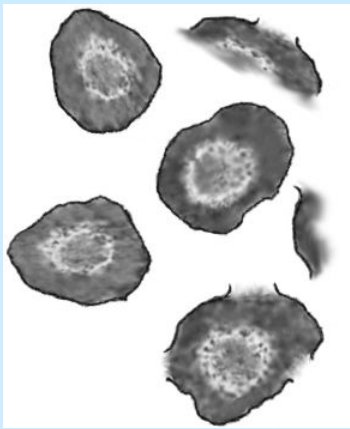
< 0.37
0.37-1.0
1.0-1.5
1.5-2.0
> 2.0



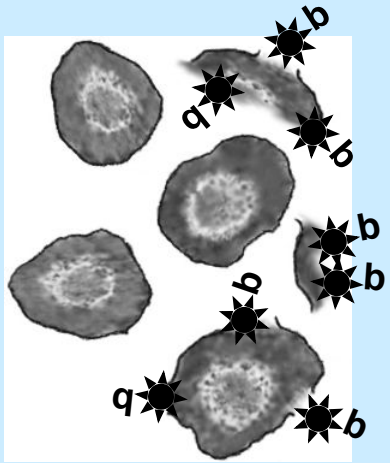
Селекция антител на клетках MCF7



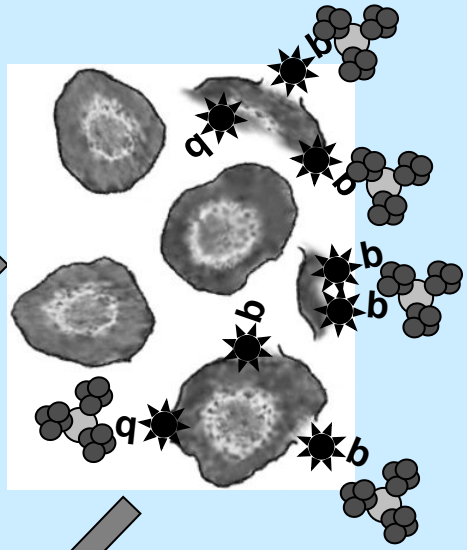
Оптимизированная селекция антител на живых клетках



+ b

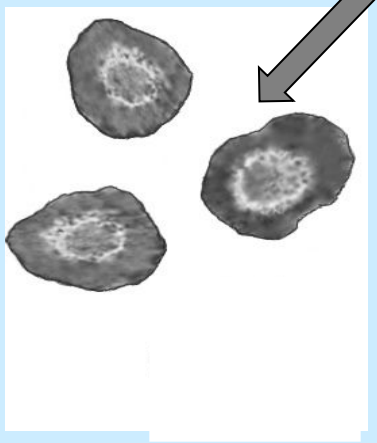


+



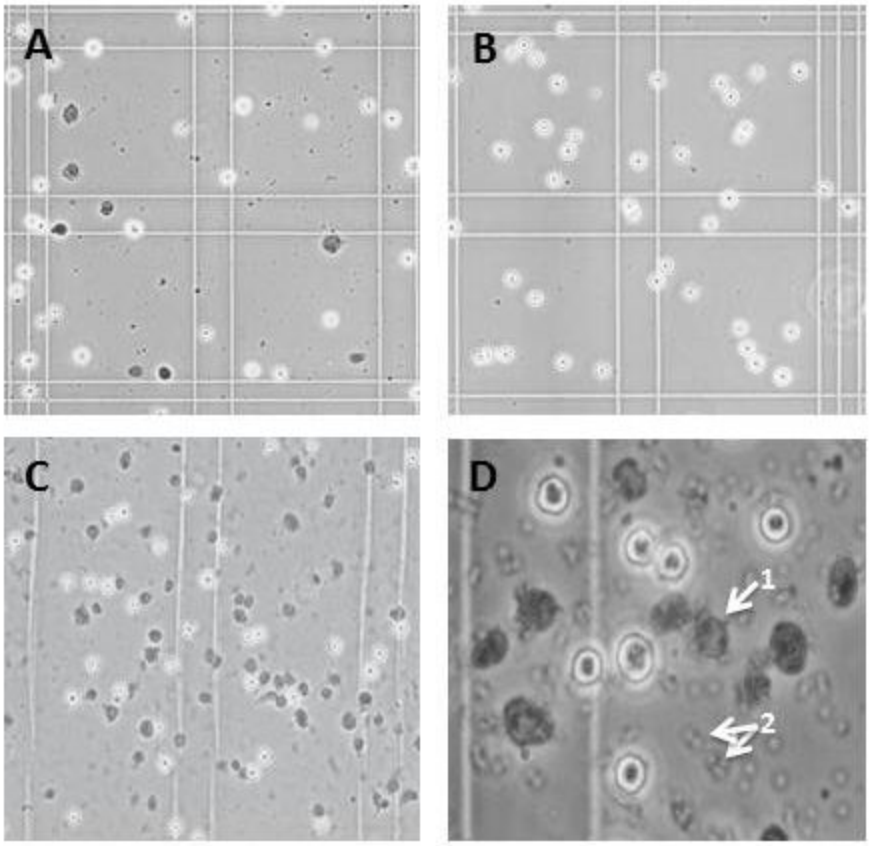
b - biotinylated annexin V

- streptavidinated Dynabeads



intact cells

Оптимизированная селекция антител на живых клетках



E

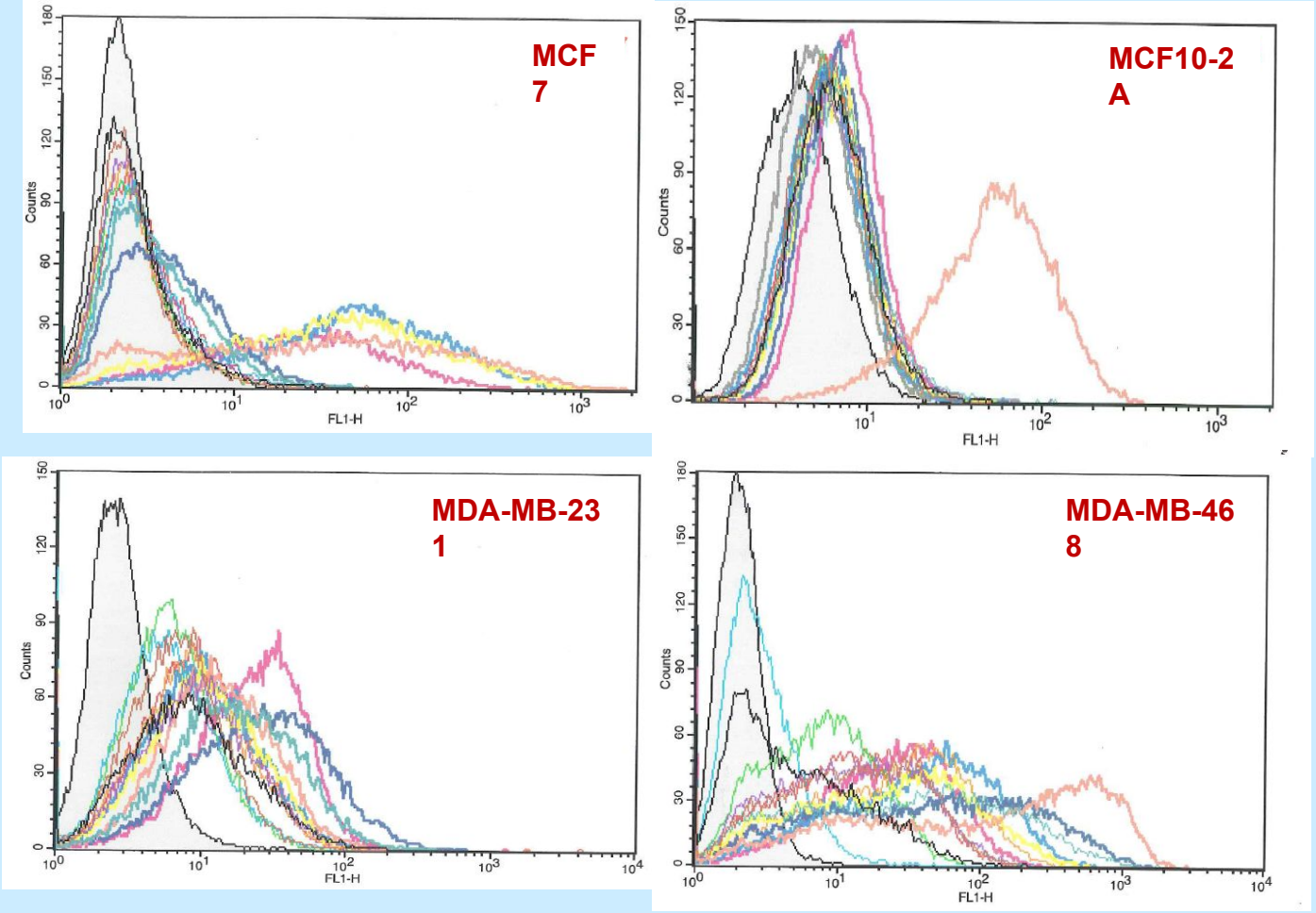
	non purified MCF-7	purified MCT-7
total cells	$1x10^7$	$5.5x10^6$
dead cells	$2x10^6$	$2.4x10^5$
% of dead cells by nucleocounter	20%	4.3%
% of dead cells by camera of Burker	22%	2.40%

A клетки до очистки
B после очистки
C фракция клеток связанных с микросферами (увел. x10)
D (увел. x20)

Оптимизированная селекция антител на живых клетках

phage pools	MCF7	
	% positive alive cells	% positive dead cells
IV old	0	35
V B96	0	34
V new	61	52

Оптимизированная селекция антител на живых клетках



αM13
IV mixTIL old prot.
V scFvB96 old prot.
V mixTIL
2A
41
43
48
62
68
71
72
75
81

ОСНОВНЫЕ ТИПЫ ДИСПЛЕЯ НА НИТЧАТОМ ФАГЕ

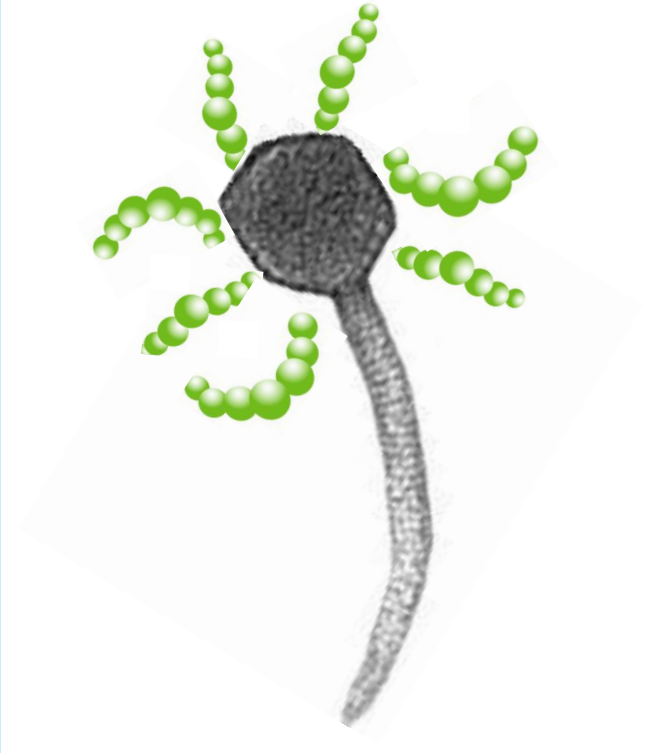
дисплей основанный на pIII:

1. В фаге присутствует только 5 копий белка pIII
2. pIII не чувствителен к длине встройки
3. pIII подходит для диспея пептидов и белков, включая Fab и scFv

дисплей основанный на pVIII:

1. В фаге присутствует 2700 копий белка pVIII
2. pVIII чувствителен к длине встройки
3. pVIII подходит для диспея пептидов

ДИСПЛЕЙ ОСНОВАННЫЙ НА ФАГЕ ЛАМБДА



белок gpD

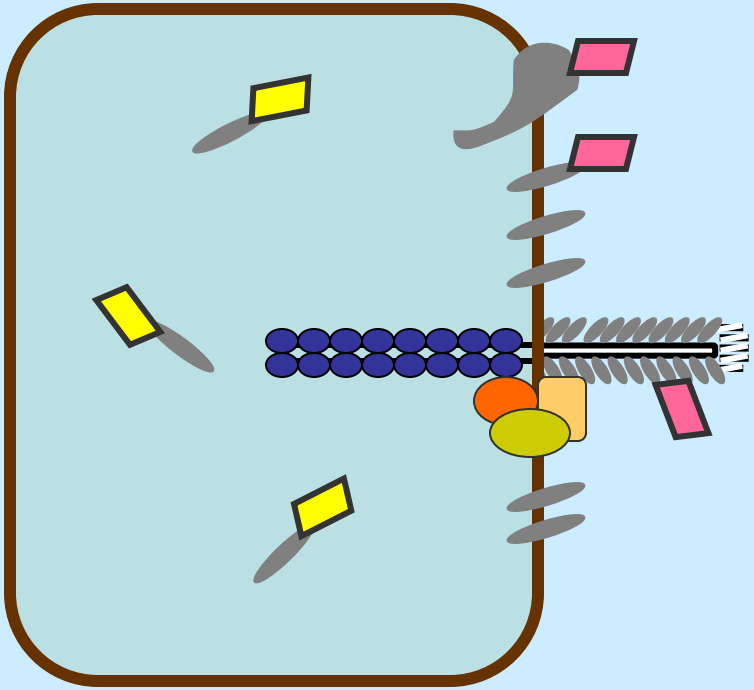
1. gpD – 420 копий
2. N- и C-концы белка gpD используются для дисплея
3. gpD не чувствителен к размеру встройки полипептида
4. 50-90% общего белка gpD приходятся на рекомбинантный gpD в системе, основанной на двух генах

белок gpV

1. gpV – около 200 копий
2. C-конец белка gpV используются для дисплея

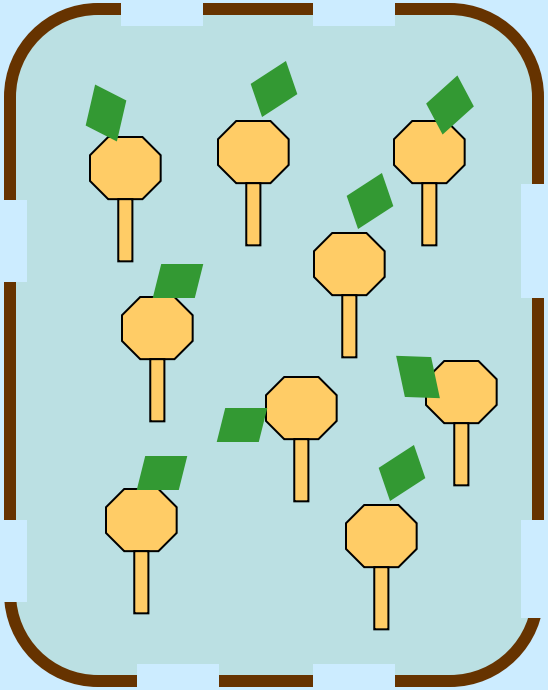
DIFFERENCE BETWEEN LAMBDA AND FILAMENTOUS PHAGES

M13 собирается на бактериальной мембране



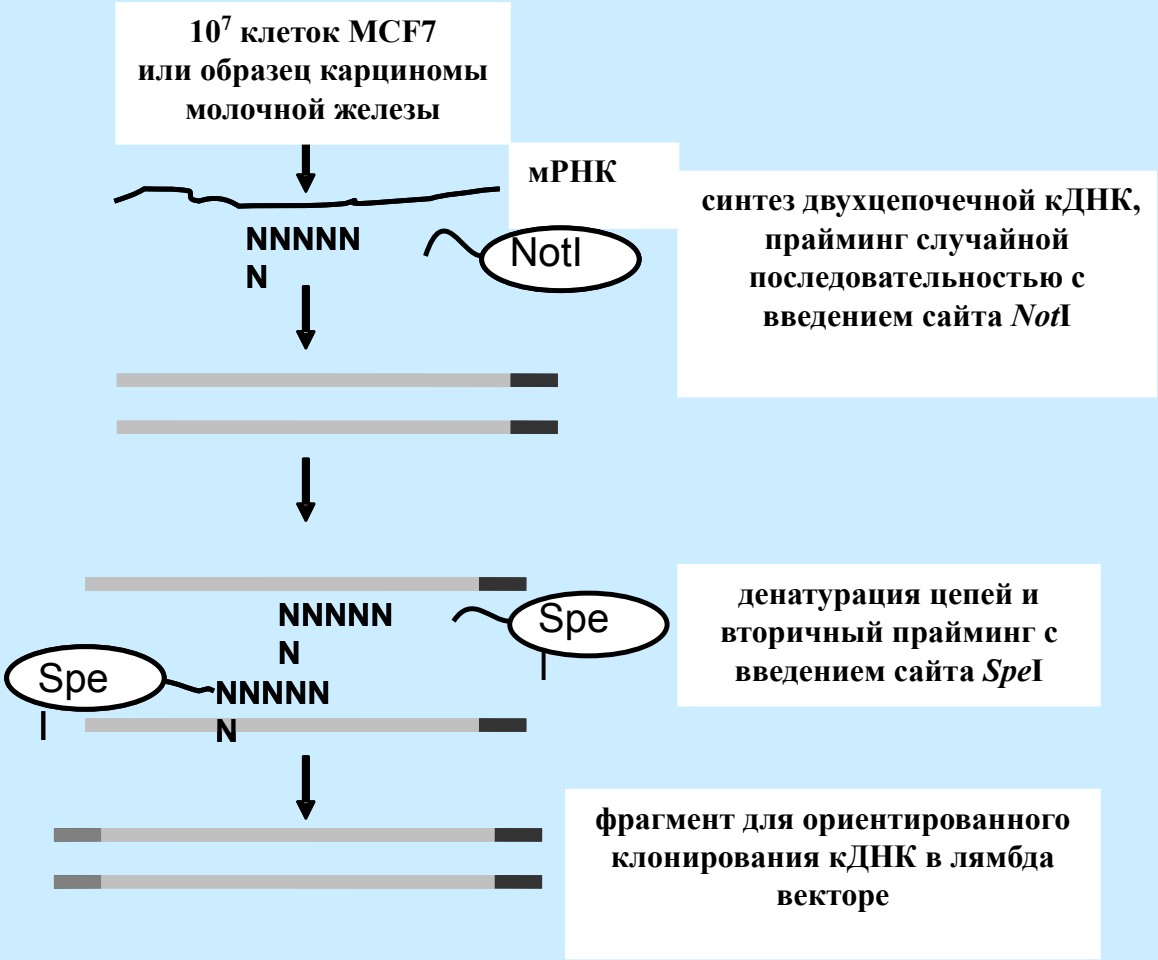
bacterial cell

Лямбда является литическим фагом

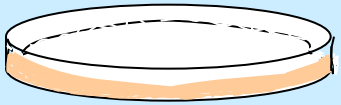


bacterial cell

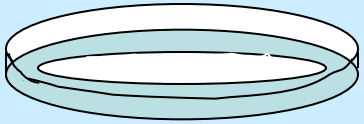
СЕЛЕКЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНОВ
КОМБИНАЦИЯ МЕТОДА SEREX И ФАГОВОГО ДИСПЛЕЯ



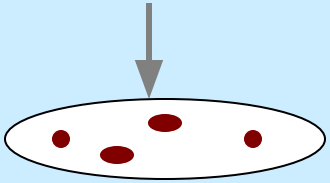
Скрининг библиотеки



перенос бляшек
на мембрану



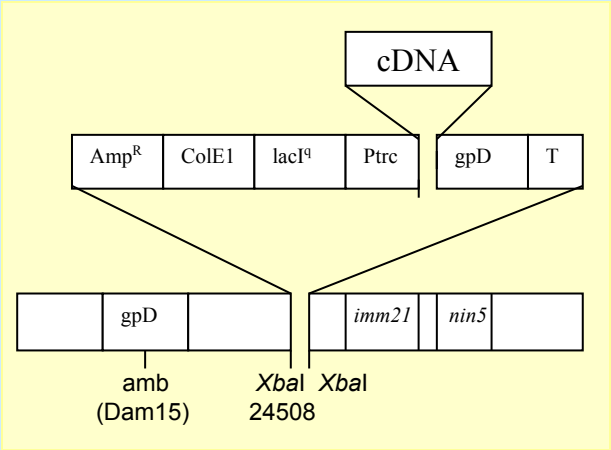
инкубирование
фильтра с сывороткой

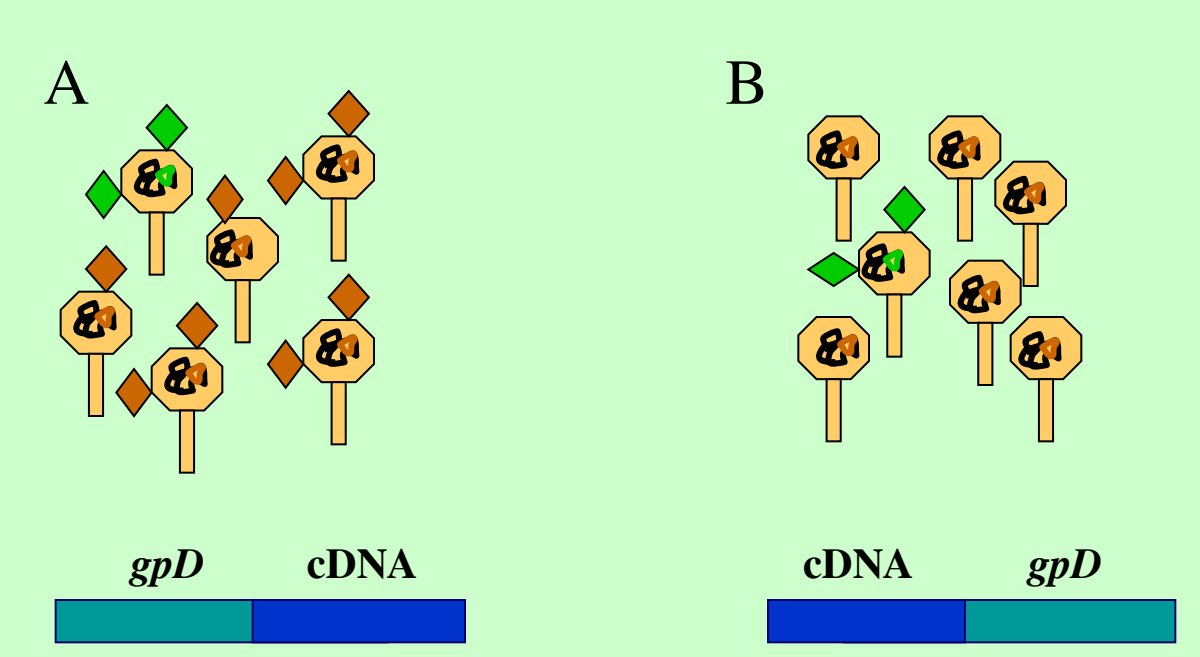


окрашивание
хроматогенным
субстратом

БИБЛИОТЕКА

Идентификация опухолевых антигенов путем скрининга библиотек кДНК, экспонированных на поверхности фага лямбда, с помощью сывороток пациентов





C-концевая сшивка

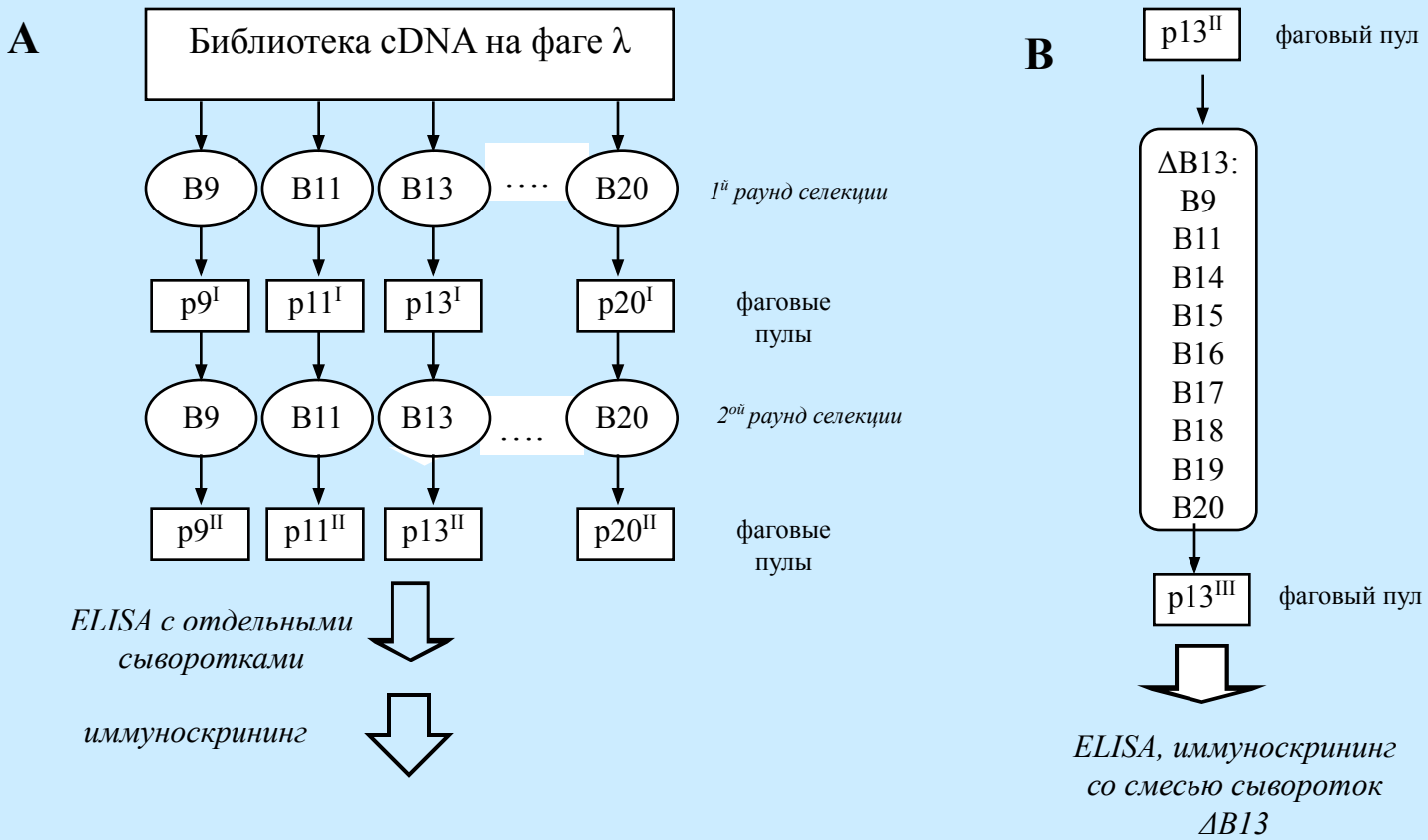
N-концевая сшивка

СЕЛЕКЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНОВ

Список библиотек кДНК, экспонированных на бактериофаге лямбда.

Название библиотеки	Место сшивки с gpD	Источник кДНК	Размер библиотеки
T5	N-конец	MCF7+MDA-MB-468	$1.7x10^7$
T6	C-конец	MCF7+MDA-MB-468	$3.4x10^7$
T7	N-конец	опухоль молочной жел., пациент B81	$1.5x10^6$
T9	N-конец	опухоль молочной жел, пациент B84	$2.3x10^7$
T11	N-конец	Тестикулы человека	$1.3x10^7$

СЕЛЕКЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНОВ

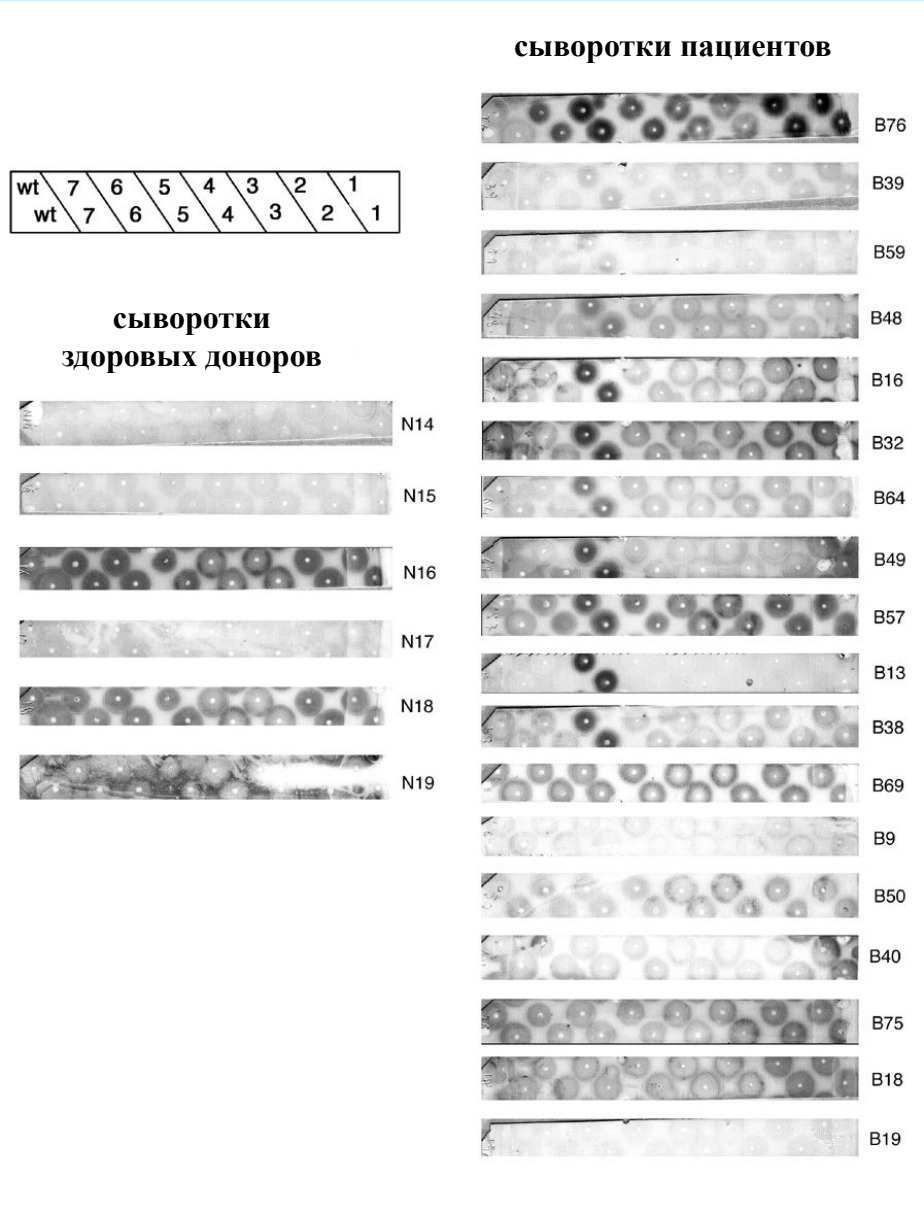


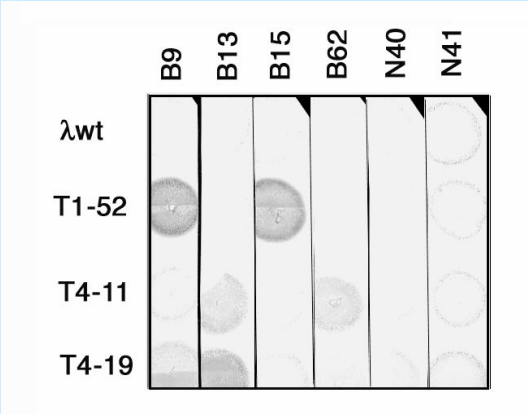
	В сыворотки, используемые для селекции и анализа				
фаги	B9	B13	B15	B19	B20
WT					
I раунд					
II раунд					

	смесь сыв-к ΔB13
WT	
p13I	
p13III	

0 0.3 0.5 1.0 2.0

СЕЛЕКЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНОВ/иммуноскрининг





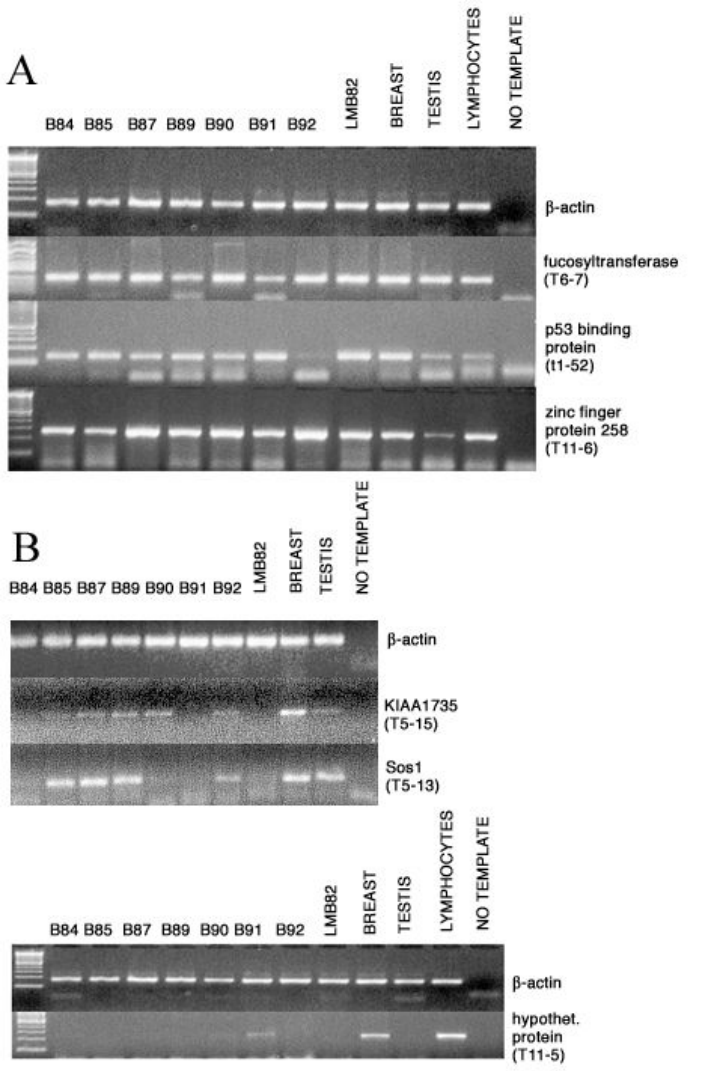
	B9	B13	B15	B62	N40	N41
T1-52	1.4	0	2.2	0	0	0
T4-11	0.3	0.4	0	1.4	0	0
T4-19	0.6	2.3	0	0.1	0	0

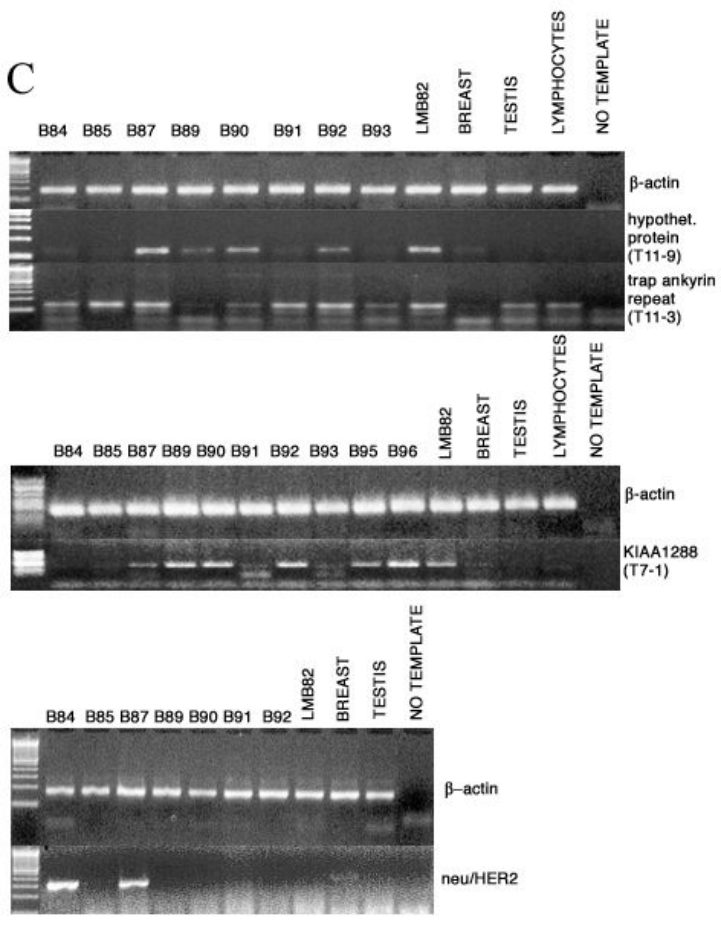
СЕЛЕКЦИЯ ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНОВ

	Клоны	Длина (а.о.)	Соответствующий ген (accession number)	Классификация	Частота реактивности фагового клона		
					Пол. сыв.	Отр. сыв.	*P*
1	T5-2	35	ДНК человеческого генома (AL589935)	-	1/15	0/15	0.31
2	T5-8	83	Белок AKAP (NP_671700)	Не известен как опухолевый АГ	1/30	0/32	0.313
3	T5-9	26	Гомолог обратной транскриптазы (P08547)	Опухолевый АГ [Chen, 2001]	4/35	1/38	0.138
4	T5-13	132	Sos1 (NP_005624)	Не известен как опухолевый АГ	2/60	0/52	0.184
5	T5-15	100	KIAA1735	Не известен как опухолевый АГ	7/60	1/43	0.081
6	T5-18	56	Онкоген myc (альтер. рамка счит.) (NM_002467)	Не известен как опухолевый АГ	2/12	0/12	0.14
7	T5-19	24	EST (AI903226)	Не известен как опухолевый АГ	8/37	4/38	0.19
8	T5-20	130	VRK1(vaccinia-related kinase 1) (NP_003375)	Не известен как опухолевый АГ	3/40	0/24	0.169
9	T6-1	64	Протеин киназа С-связывающий белок (Q9ULU4)	АГ лимфомы [Eichmuller et al., 2001]	6/36	0/12	0.131
10	T6-2	15	Не найден	-	16/36	4/24	0.026
11	T6-6	40	Идентичен белку MGC9515 (XP_351049)	Не известен как опухолевый АГ	1/11	0/11	0.306
12	T6-7	29	Альфа 1,6 фукозилтрансфераза (NP_835370)	Не известен как опухолевый АГ	7/28	1/24	0.025
13	T7-1	75	KIAA1288/NEP (AAQ24172)	Не известен как опухолевый АГ	18/40	4/24	0.021
14	T9-21	73	Гомолог обратной транскриптазы (P08547)	Опухолевый АГ [Chen, 2001]	6/16	0/14	0.011
15	T9-27	82	Гомолог обратной транскриптазы (P08547)	Опухолевый АГ [Chen, 2001]	6/31	0/32	0.009
16	T11-3	71	Trap ankyrin repeat/ NY-BR-16 (NP_115593)	Опухолевый АГ [Scanlan et al., 2001]	2/25	0/12	0.314
17	T11-5	71	MGC4170 (NP_077288)	Не известен как опухолевый АГ	1/18	0/20	0.285
18	T11-6	96	Zinc finger 258 (NP_009098)	Не известен как опухолевый АГ	1/20	0/20	0.311
19	T11-7	22	Гомолог обратной транскриптазы (P08547)	Опухолевый АГ [Chen, 2001]	1/20	0/20	0.302
20	T11-9	82	Гипотетический человеческий белок (AF225417)	Не известен как опухолевый АГ	1/11	0/9	0.353
21	T11-13	81	Белок температурного шока apg-2 (P34932)	Опухолевый АГ [Nakatsura et al., 2001; Scanlan et al., 1998]	1/15	0/14	0.326

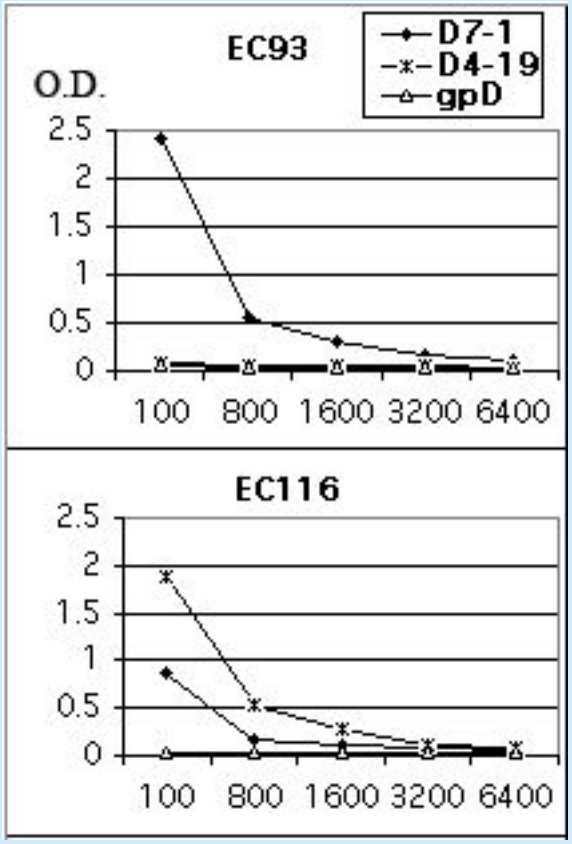
Название каждого клона включает название библиотеки (T1, T2 и т. д.) и порядковый номер клона.

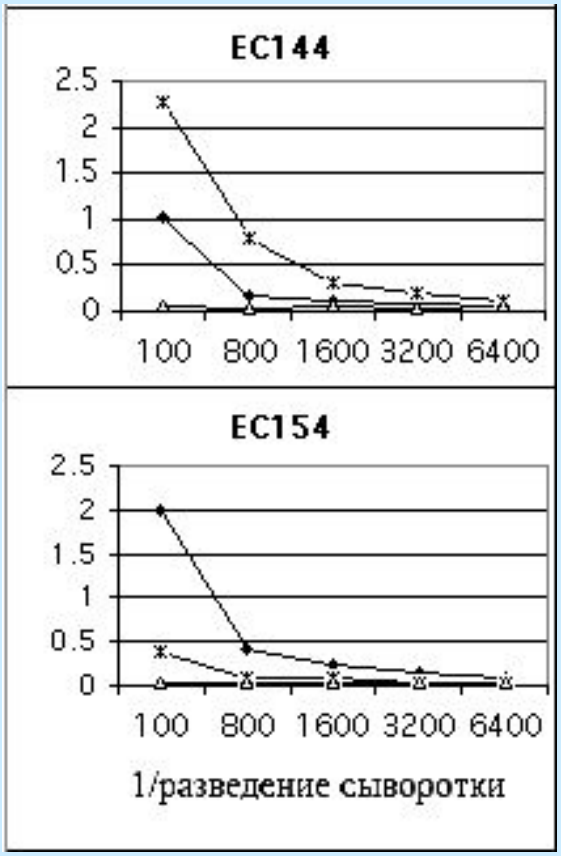
АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ОПУХОЛЕВЫХ АНТИГЕНОВ





ИССЛЕДОВАНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ОПУХОЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ





ИССЛЕДОВАНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ОПУХОЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

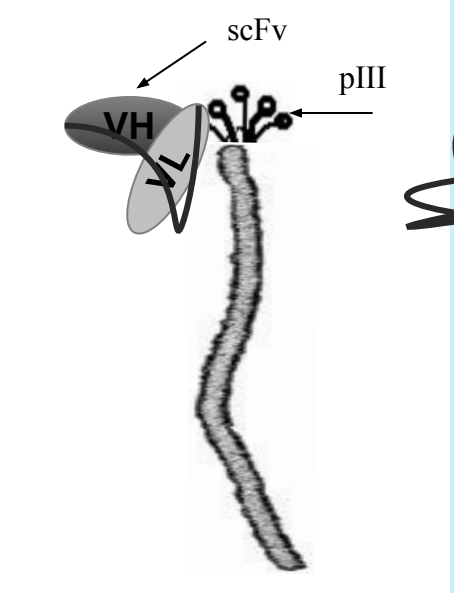
Клон	GST сшивка	Контрольные сыворотки (положительные/общее число)	I-IV стадии (положительные /общее число)	*P*	Относительный риск	ДИ ($Н_{пр}$-$В_{пр}$)
T1-32	GST_T1-32	5/41 (12.20%)	23/182 (12.64%)	1	1.04	0.35 - 3.74
T5-9	GST_T5-9	0/33 (0%)	6/182 (3.30%)	0.59	∞	0.21 - ∞
T5-18	GST_T5-18	0/27 (0%)	13/182 (7.14%)	0.23	∞	0.45 - ∞
T6-2	GST_T6-2	0/26 (0%)	25/182 (13.74%)	**0.05**	>4.12	0.96 - ∞
T9-21	GST_T9-22	1/29 (3.45%)	19/182 (10.44%)	0.32	3.25	0.48 – 140.32
	gpD сшивка					
T1-52	D1-52	5/74 (6.76%)	8/182 (4.4%)	0.53	0.64	0.18 - 2.56
T1-74	D1-74	6/47 (12.77%)	28/182 (15.38%)	0.82	1.24	0.46 - 3.92
T4-11	D4-11	0/60 (0%)	15/182 (8.24%)	**0.03**	>5.36	1.24 - ∞
T4-19	D4-19	5/115 (4.35%)	34/186 (12.28%)	**<0.01**	4.90	1.83 - 16.57
T7-1	D7-1	3/63 (4.76%)	33/186 (17.74%)	**0.01**	4.30	3/63 (4.76%)
	фаги					
T9-27	T9-27	0/39 (0%)	19/172 (11.05%)	**0.03**	>4.8	0/39 (0%)
T11-5	T11-5	0/20 (0%)	7/172 (4.07%)	1	∞	0/20 (0%)

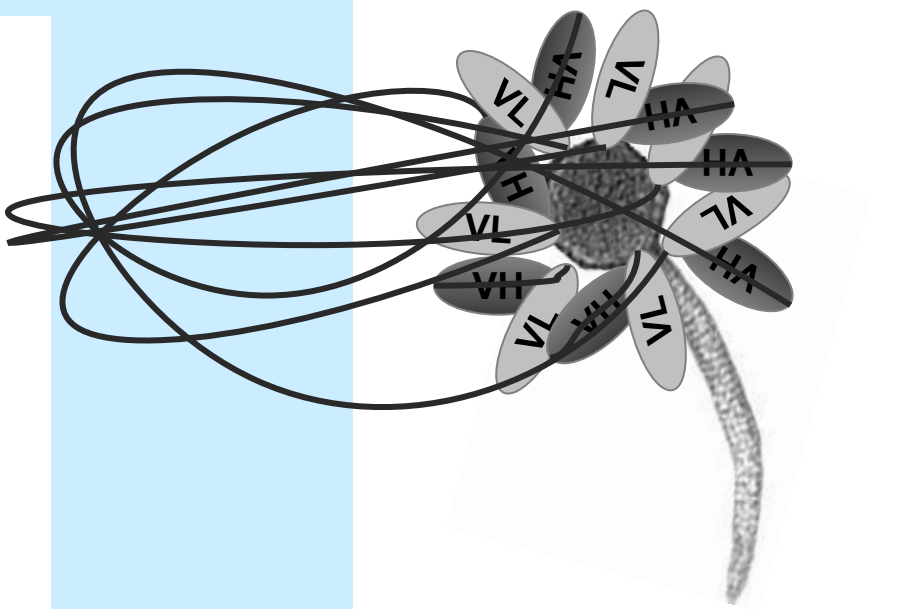
ИССЛЕДОВАНИЕ ГУМОРАЛЬНОГО ИММУННОГО ОТВЕТА У ПАЦИЕНТОВ С ОПУХОЛЯМИ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Значимость встречаемости антител в зависимости от стадии болезни (P).

Антиген	Стадии с I по IV *P*	Стадии I, II, III vs. IV *P*	Пять стадий *P*
D4-19	0.554	0.835	0.002
D7-1	0.049	0.042	0.001

Дисплей scFv антител на фаге лямбда

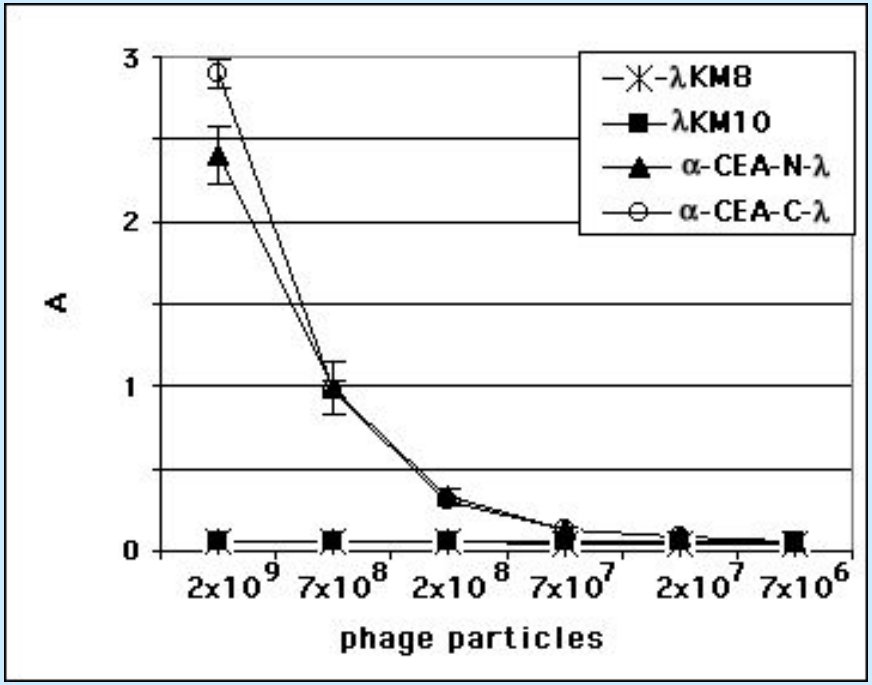


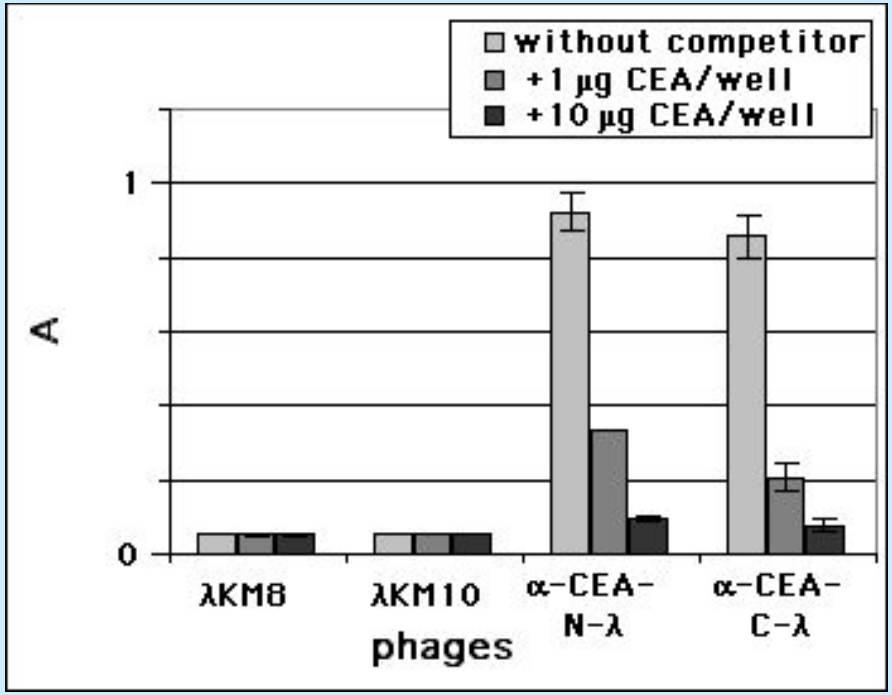


filamentous phage

lambda phage

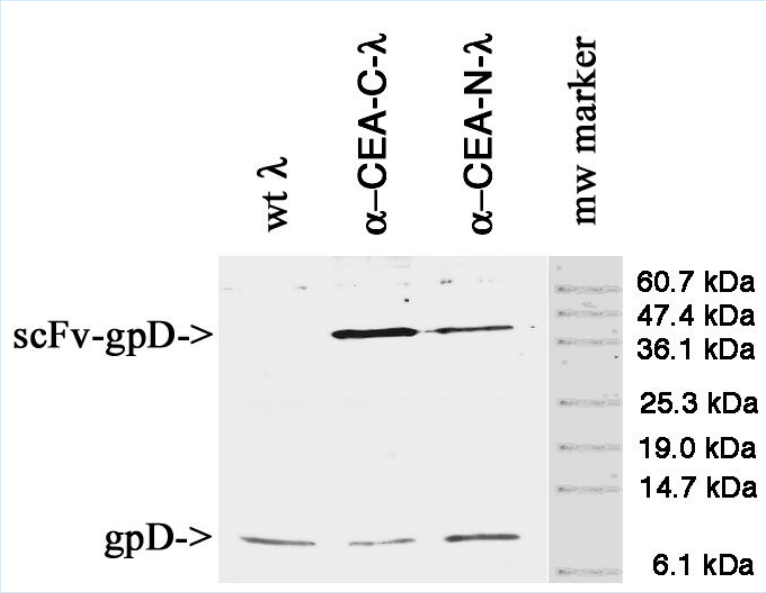
Дисплей scFv антител на фаге ламбда





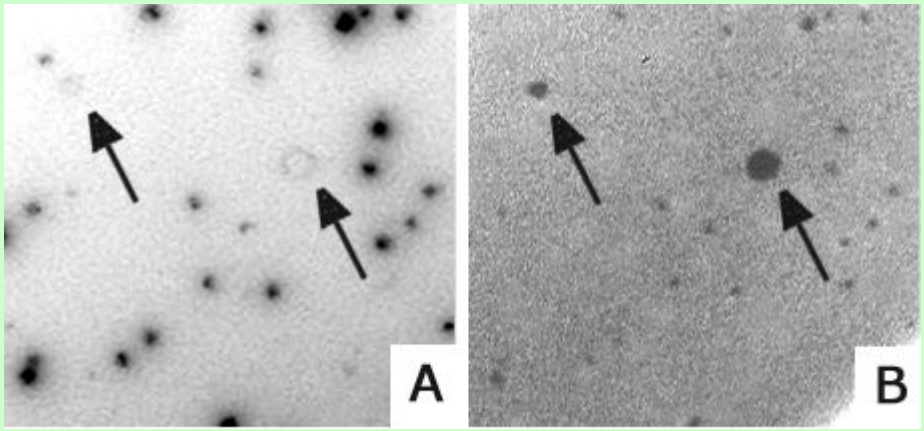
Дисплей scFv антител на фаге ламбда

Lambda phage clones	Number of infective particles/plaque
λKM8 wt	$1.7x10^6 \pm 0.65x10^6$
α-CEA-N-λ	$2.1x10^6 \pm 0.82x10^6$
λKM10 wt	$3.1x10^6 \pm 0.79x10^6$
α-CEA-C-λ	$1.3x10^3 \pm 0.86x10^3$



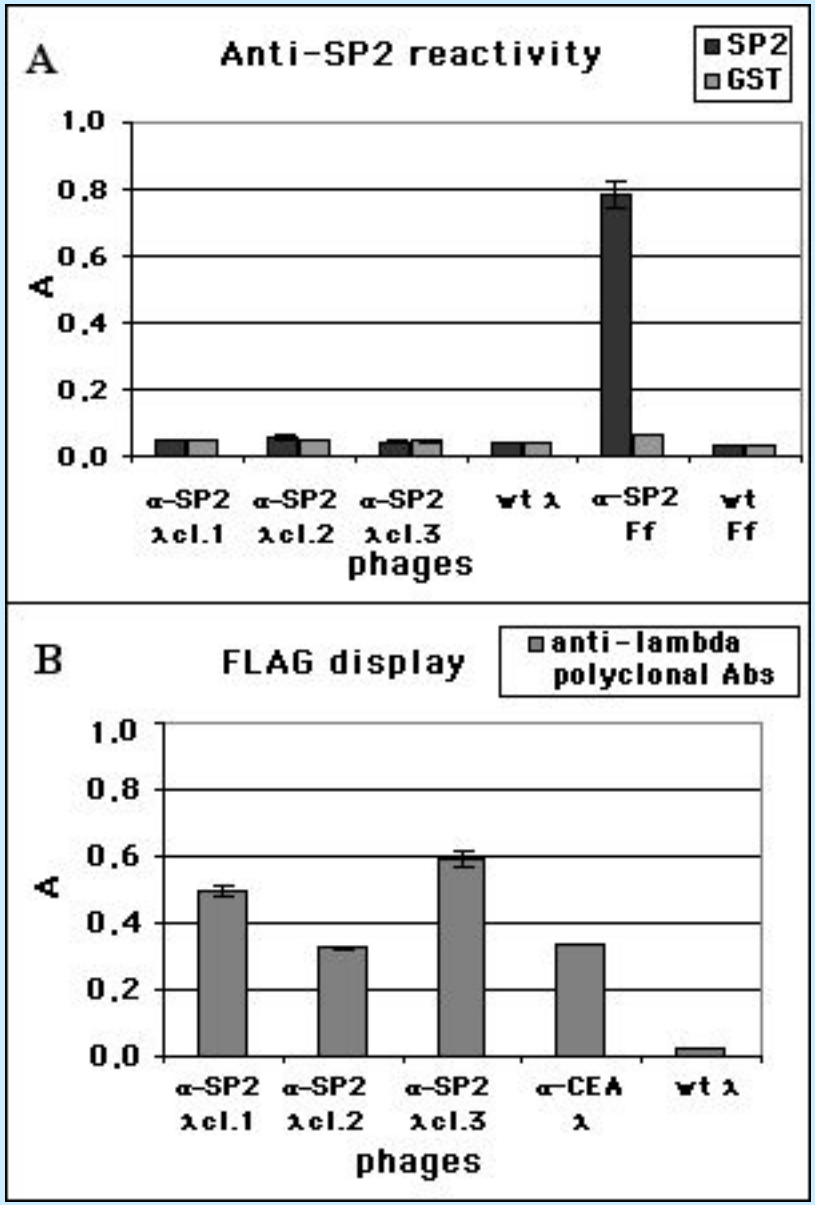
α-CEA-C-λ

immunoscreening plaques in top-agar

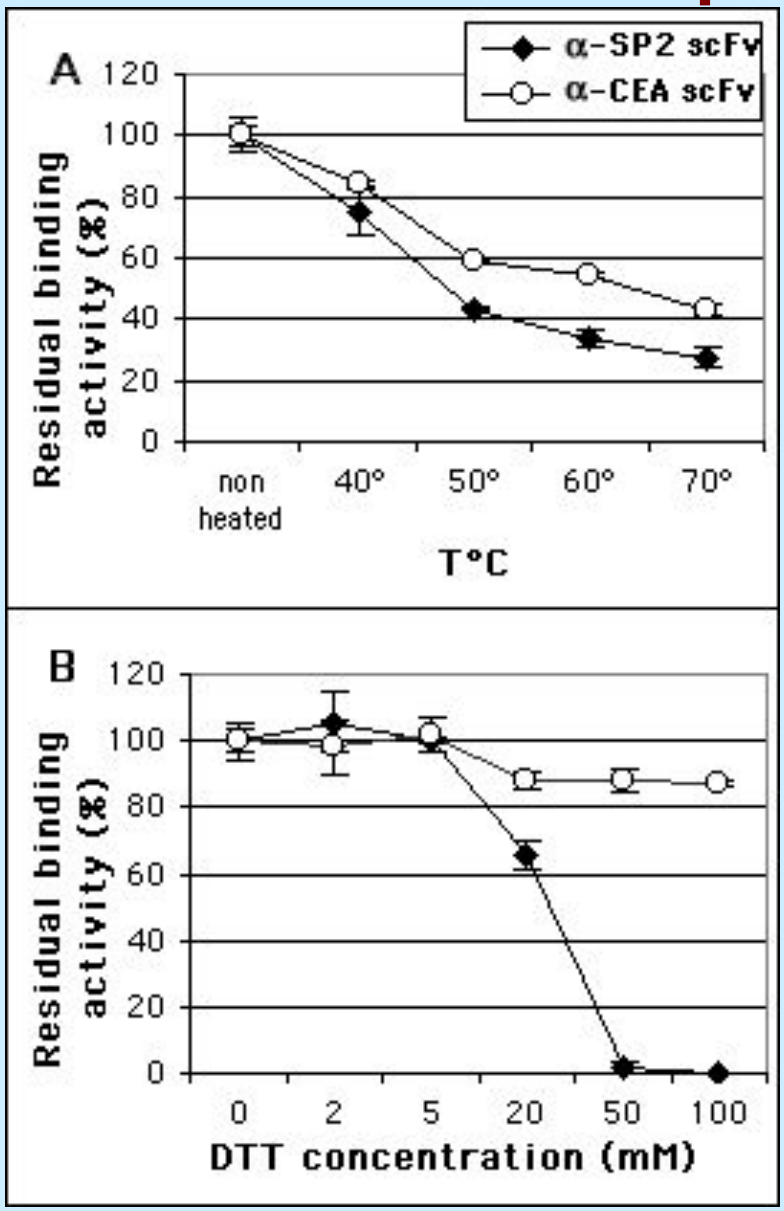


nitrocellulose filter
developed with anti-FLAG
secondary antibody

Дисплей scFv антител на фаге лямбда

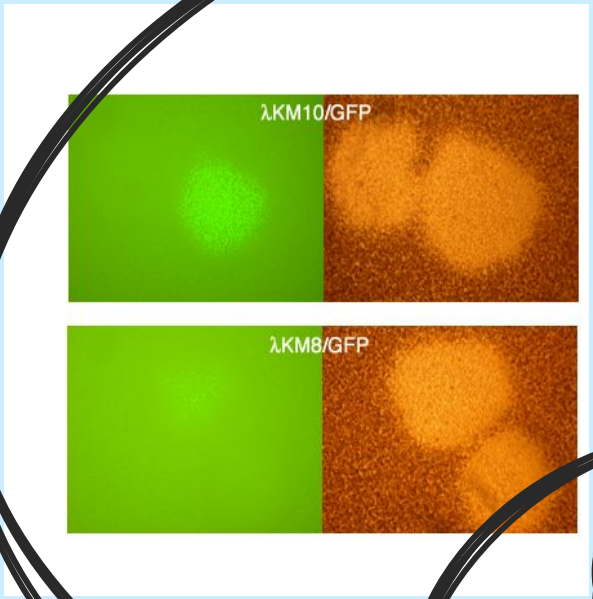


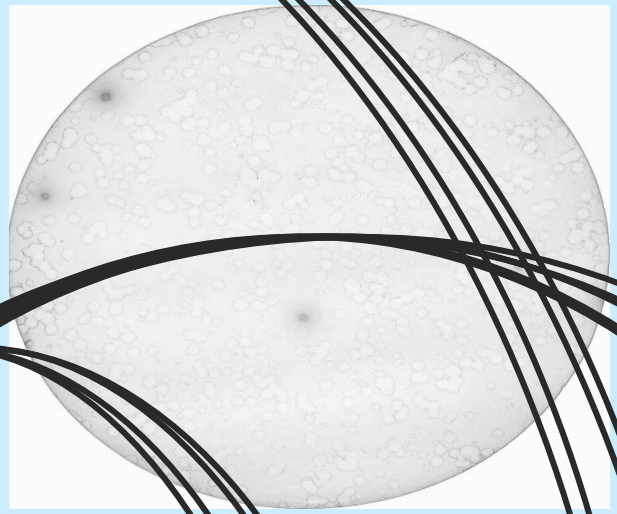
Дисплей scFv антител на фаге лямбда



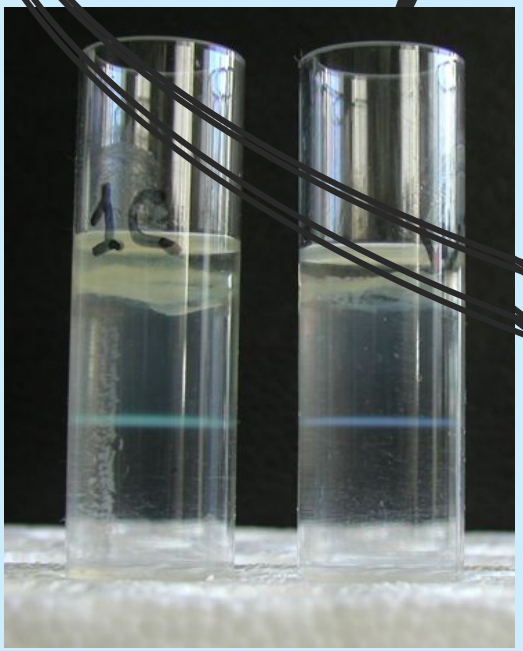
Двойной дисплей на фаге лямбда

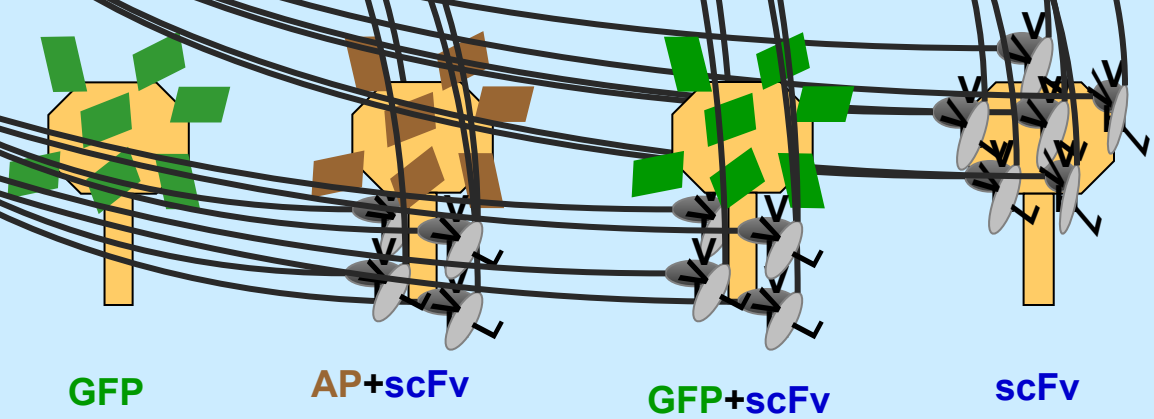
Lambda-GFP



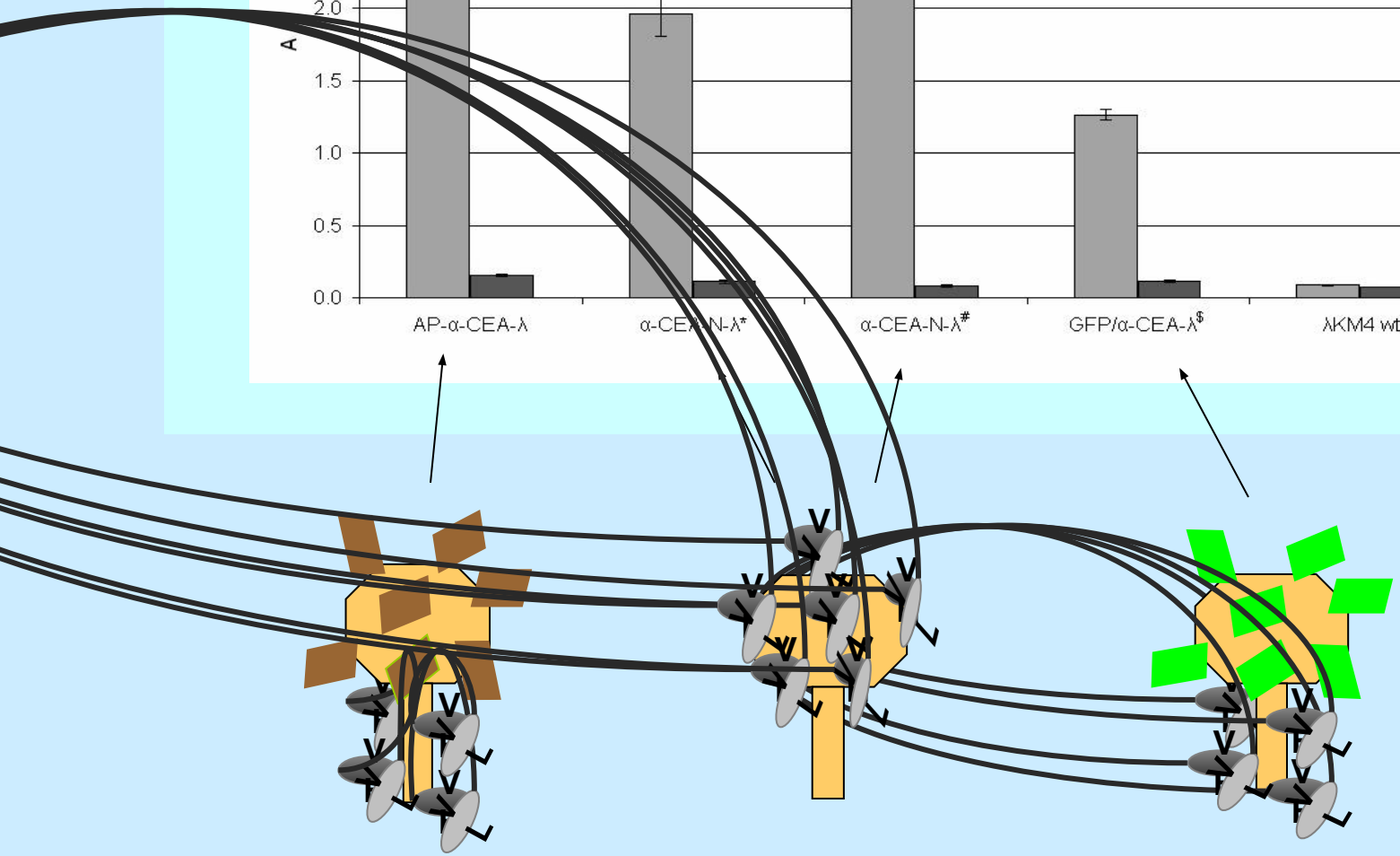


Lambda-AP-scFv

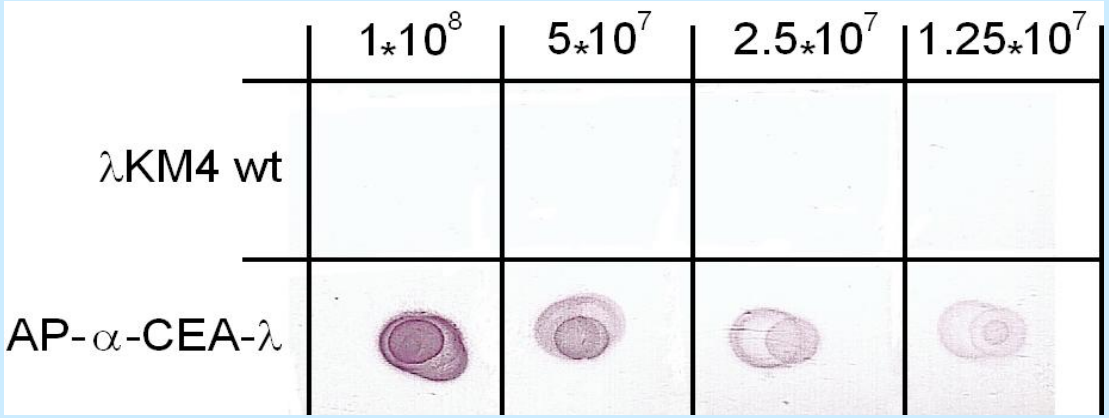


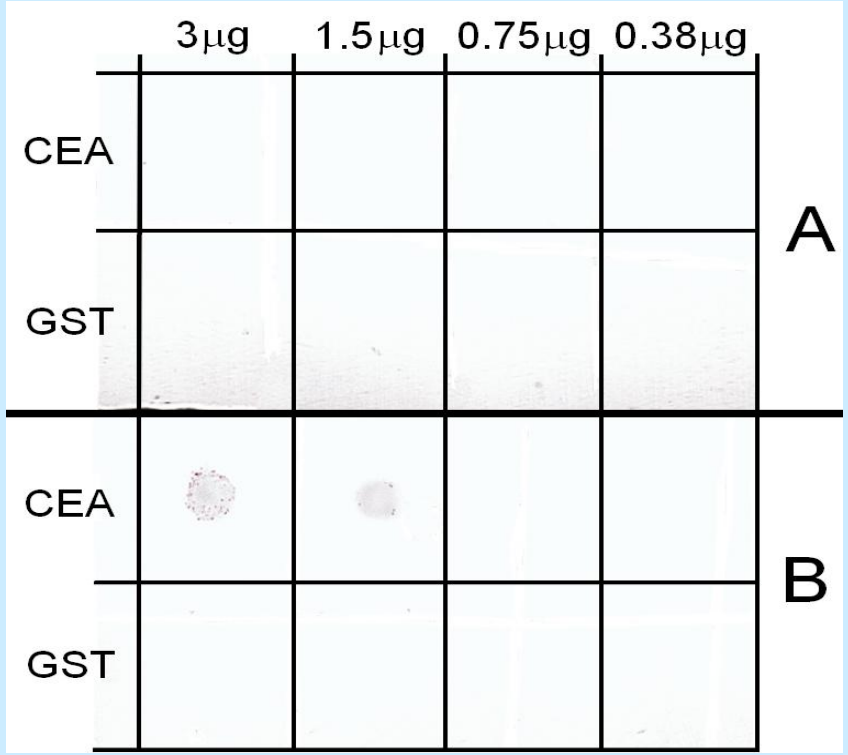


Двойной дисплей на фаге ламбда



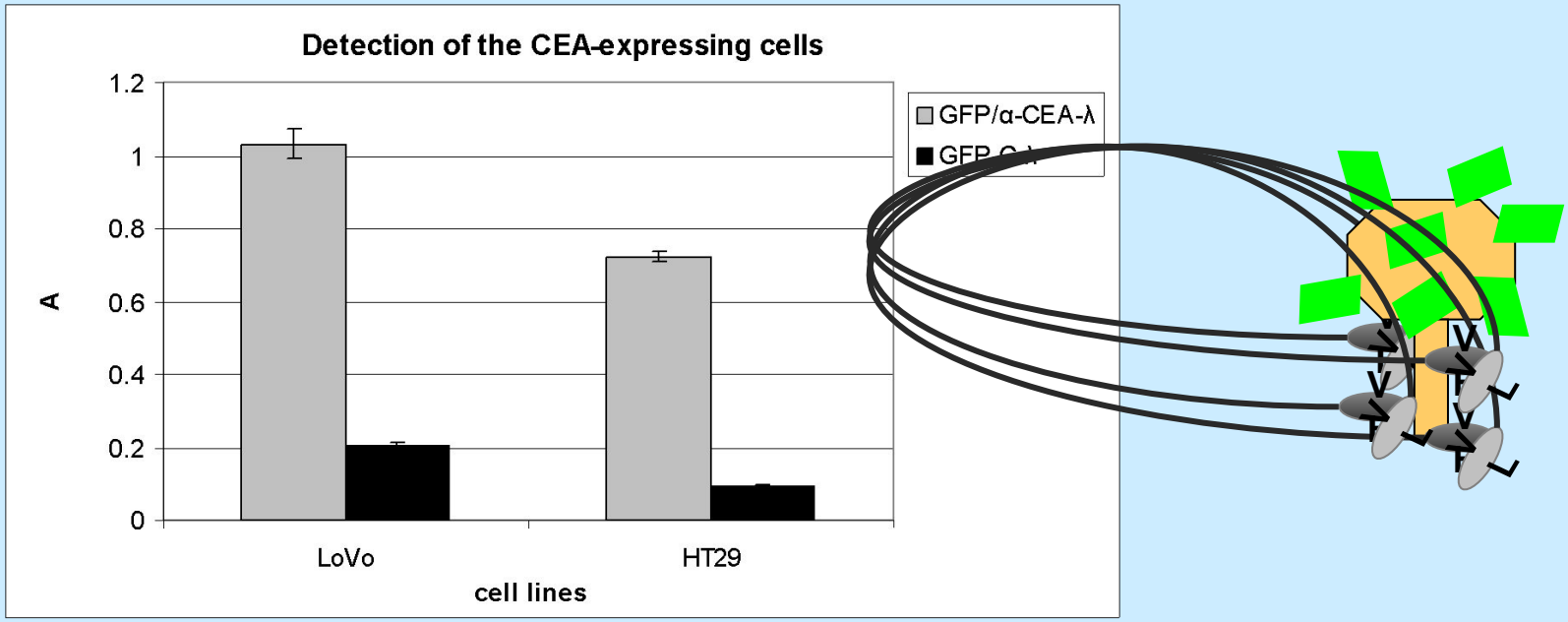
Двойной дисплей на фаге ламбда





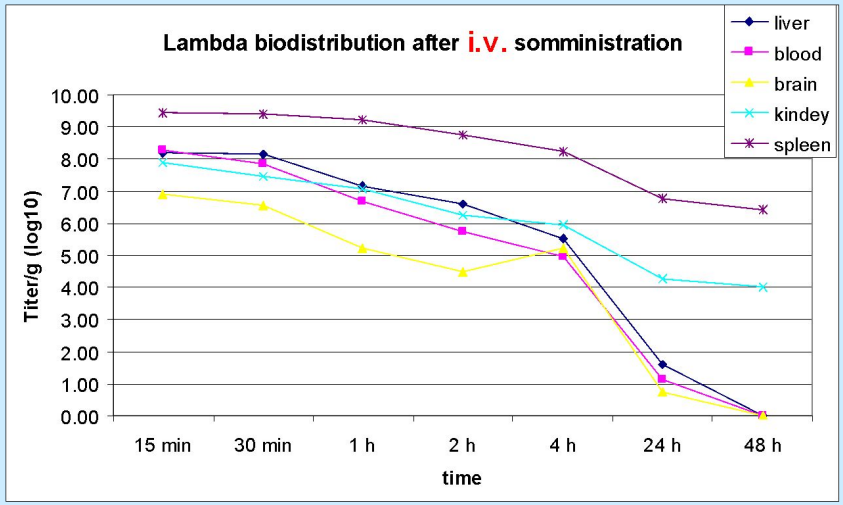
Двойной дисплей на фаге ламбда

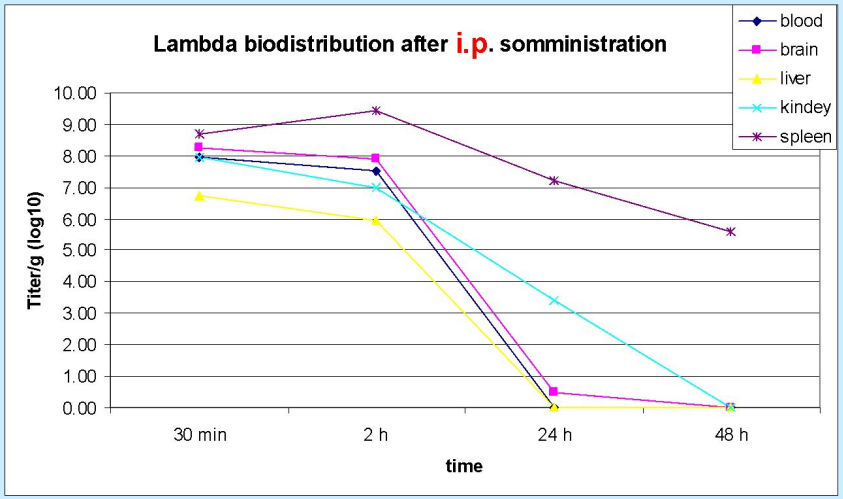
in vitro



Иммуннологическое окрашивание нефиксированных клеток LoVo and HT29 фагом GFP/α-CEA-λ.

Кинетика распределения фага ламбда в мышах *nude* после введения в вену, внутрибрюшинно и орально



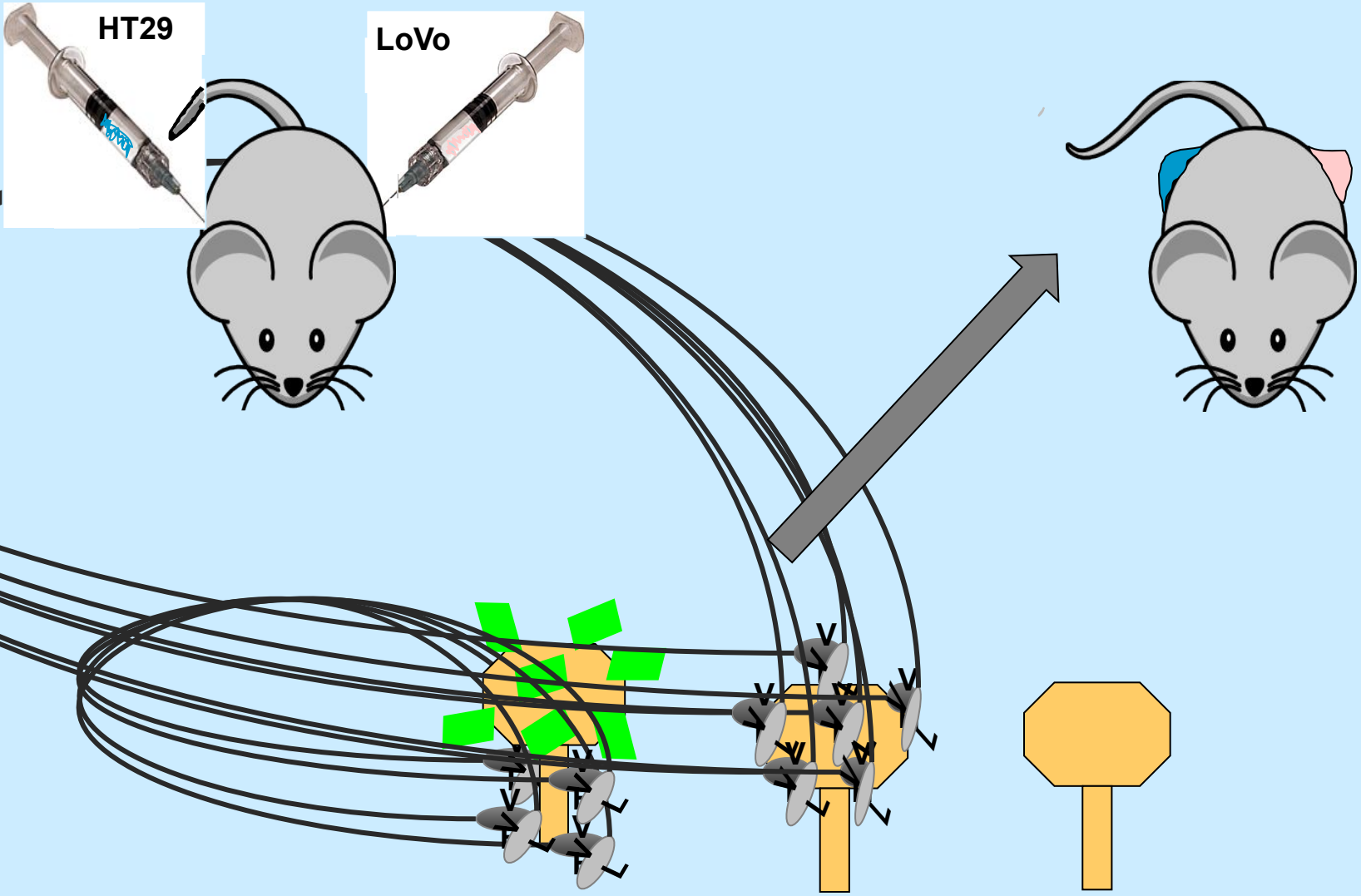


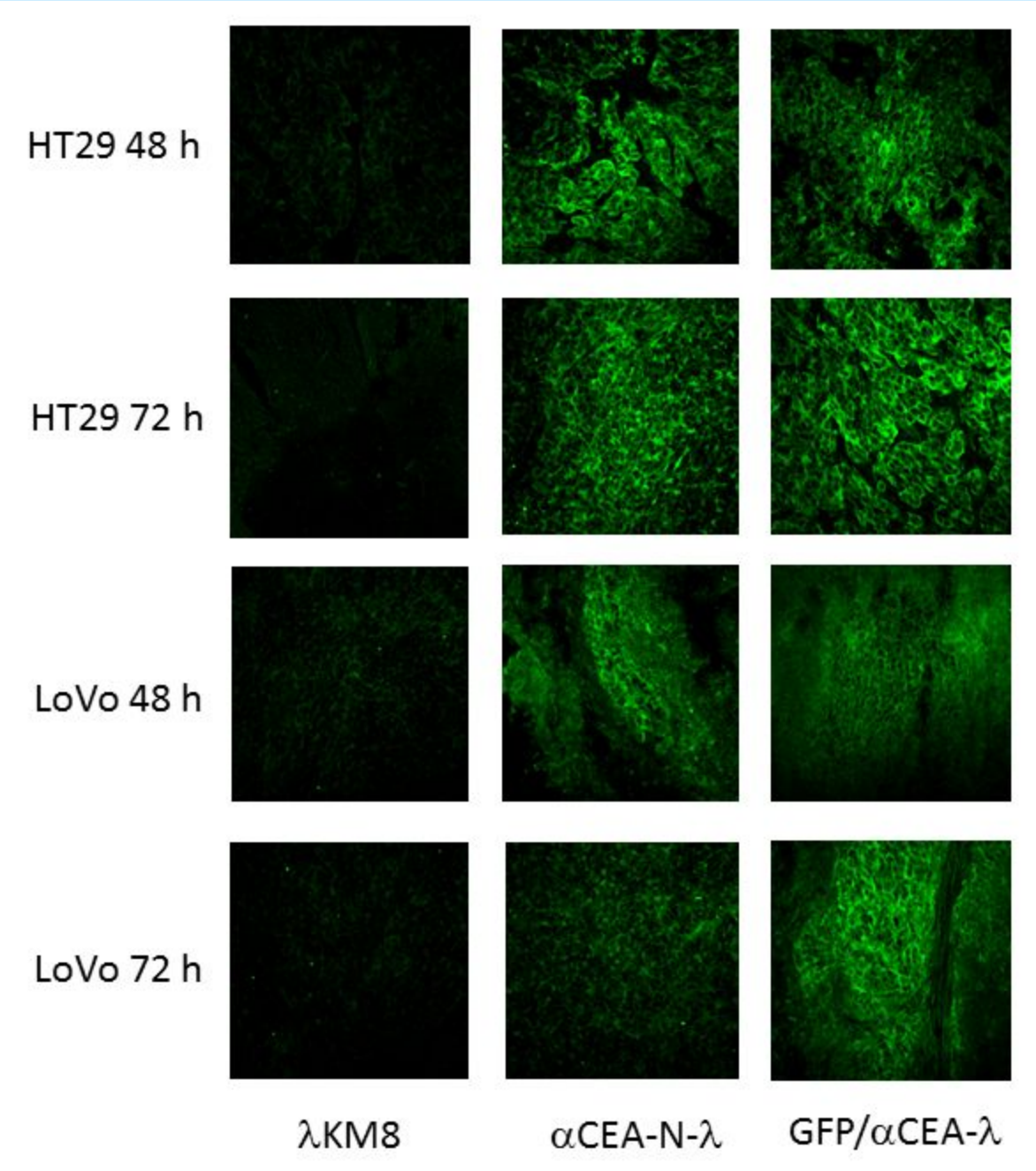
phage titer/g tissue (log10) after **per os** administration

	30 min	2 h	24 h	48 h
blood	0.00	0.00	0.00	0.00
brain	0.00	0.00	0.00	0.00
liver	0.00	0.00	0.00	0.00
kindey	0.00	0.00	0.00	0.00
spleen	0.00	0.00	0.00	0.00
intestine	n.d.	7.4	0.00	n.d.

in vivo

Таргетинг опухоли фагами введенными внутривенно




HT29 48 h
HT29 72 h
LoVo 48 h
LoVo 72 h
λKM8
αCEA-N-λ
GFP/αCEA-λ

Спасибо за внимание

КАРТИРОВАНИЕ ВИРУСНЫХ ЭПИТОПОВ

сыворотка	пептид	без инги-битора	конкурентный ингибитор					
			GST-HCV (1-127)	GST-HCV (1186-1647)	GST-HCV (1694-1904)	GST-HCV (1679-1711)	GST-HCV (1904-1959)	GST
C12	mA12.1							
C83	mA12.2							
C74	mA12.13							
C74	m1929.A3.1							

Значение O.D.

0 0.3 0.5 1.0 1.5 2.0