



# РЕКОМБИНАНТНЫЕ АНТИТЕЛА

ВЫПОЛНИЛИ ОБУЧАЮЩИЕСЯ ШКОЛЫ N1601:

БОЛЬШУНОВ ИВАН АЛЕКСЕЕВИЧ, УЧЕНИК 10 «А»

КЛ.

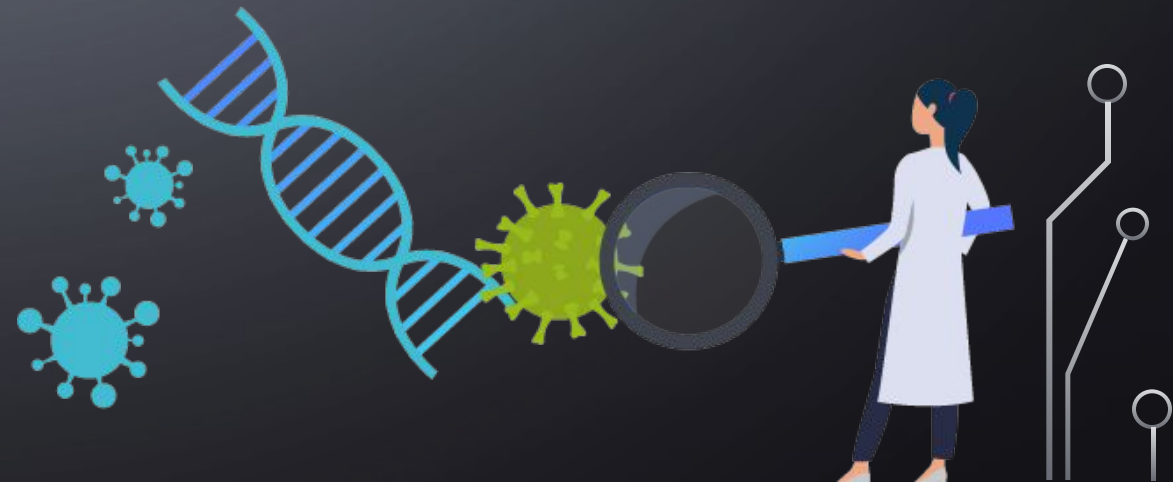
ПОЛУСТ ИПЬЯ ВИКТОРОВИЧ, УЧЕНИК 10 «А» КЛ

○ **Актуальность:** рекомбинантные антитела способствуют укреплению иммунной системы человека, используются для профилактики и лечения онкологических заболеваний, профилактики и лечения бактериальной и вирусной инфекции, что особенно важно в период пандемии Covid – 19.

**Цель:** предложить принципиальную схему очистки и выделения антител с высокой степенью чистоты.

**Задачи:**

1. Рассмотреть строение антител.
2. Предложить принципиальную схему очистки антител от сопутствующих примесей.
3. Изучить аппаратное оснащение хроматографа.
4. Предложить методы контроля чистоты антител.
5. Сделать выводы.

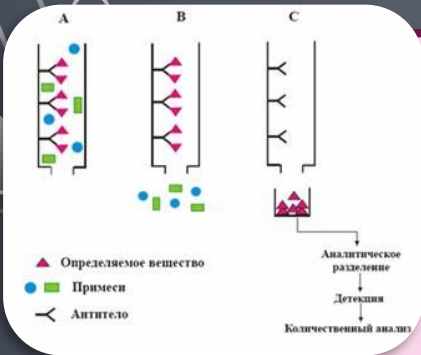


# СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ АНТИТЕЛ



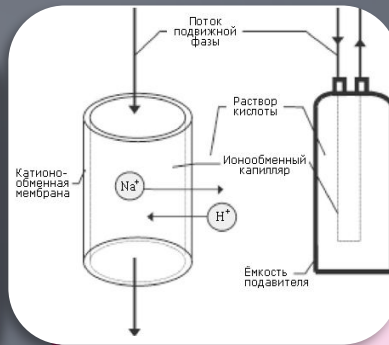
Изотип	Структура	Главная иммунная функция	Распределение
IgA	Мономер димер	Нейтрализация	Внеклеточная жидкость
IgD	Мономер	Функция неясна	В основном связан с В-клетками
IgE	Мономер	Активация тучных клеток	Тучные клетки под поверхностями эпителия
IgG	Мономер	Нейтрализация, опсонизация, активация системы комплемента, подготовка к цитотоксической функции NK-клеток	Плазма, внеклеточная жидкость
IgM	Пентамер	Активация систем комплемента	Плазма, экстравааскулярные пространства

# ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИЙ



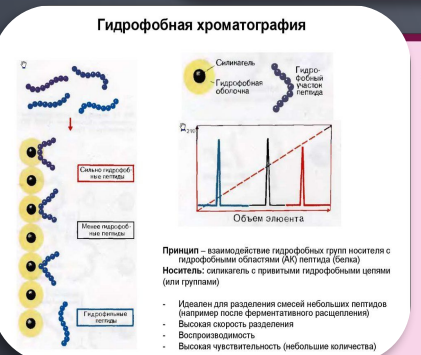
## АФФИННАЯ

Метод разделения биологических молекул, основанный на специфичном взаимодействии между белком и специфическим лигандом, связанный с матрицей.



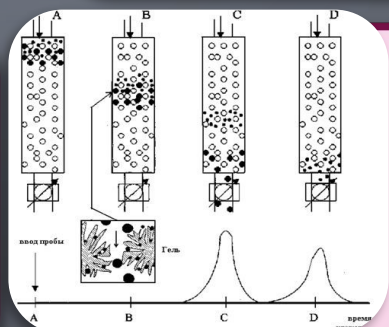
## ИОННАЯ

Метод, позволяющий разделять ионы и полярные молекулы на основе их зарядов.



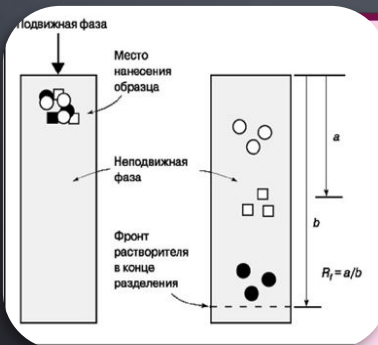
## ГИДРОФОБНАЯ

Метод разделения, основанный на свойстве гидрофобности белков.



## ЭКСКЛЮЗИОННАЯ

Метод разделения молекул в соответствии с их размерам.



## ТОНКОСЛОЙНАЯ

Метод разделения, основанный на адсорбции, распределении, ионного обмена или их комбинации, осуществляется посредством перемещения в тонком слое определяемых веществ, растворенных в растворителе или в смеси растворителей.

# ХОД РАБОТЫ

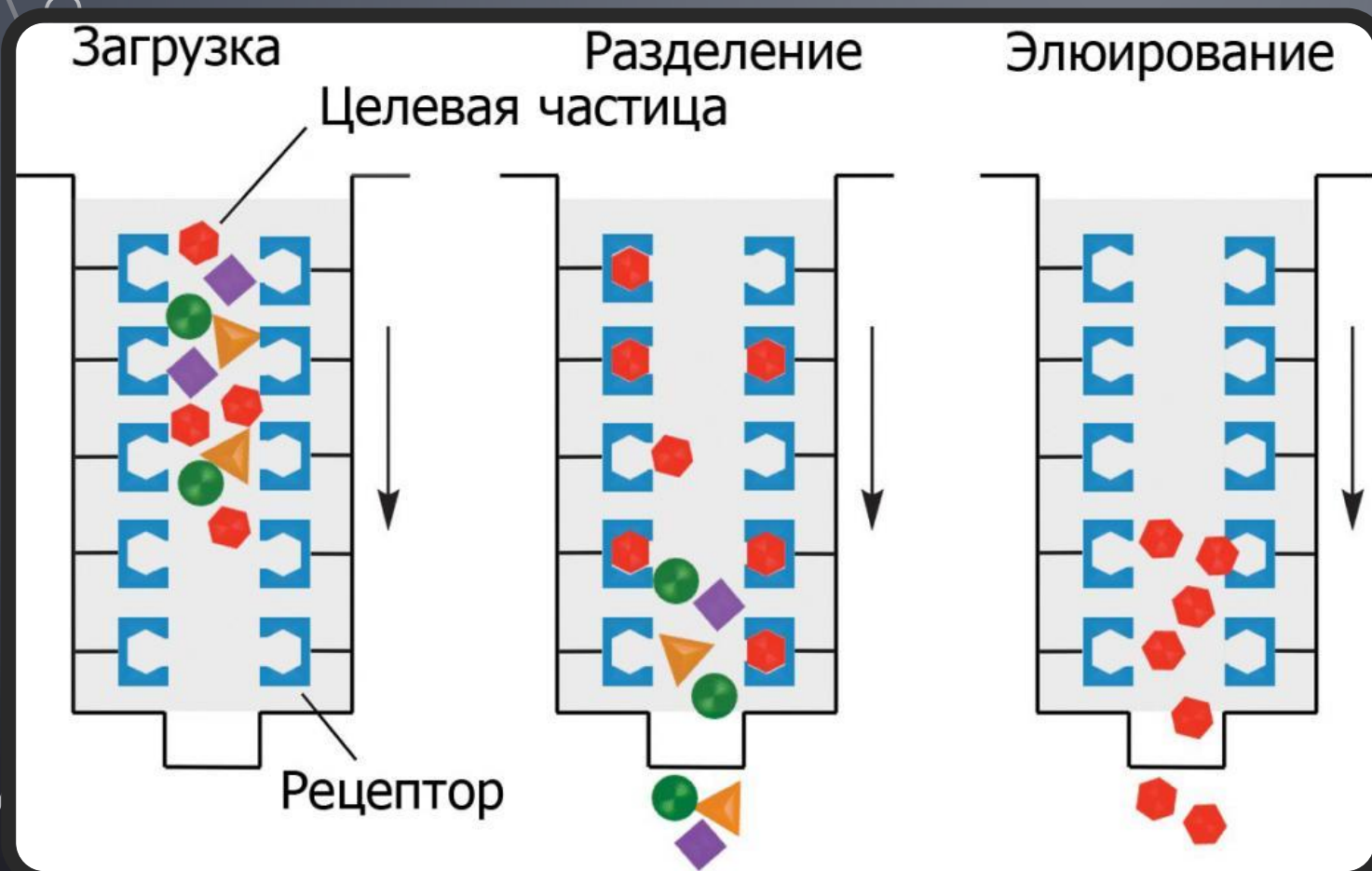
**Аффинная  
хроматограф  
ия**

Ионообменна  
я  
хроматографи  
я

Эксклюзионна  
я  
хроматографи  
я



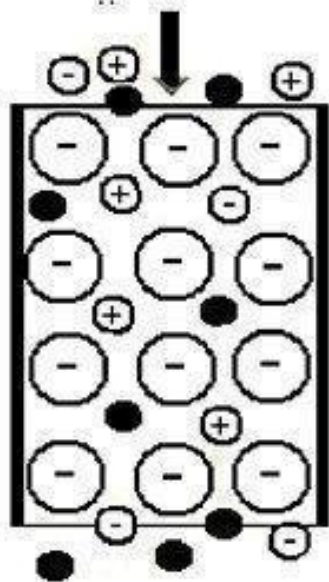
# Аффинная хроматография



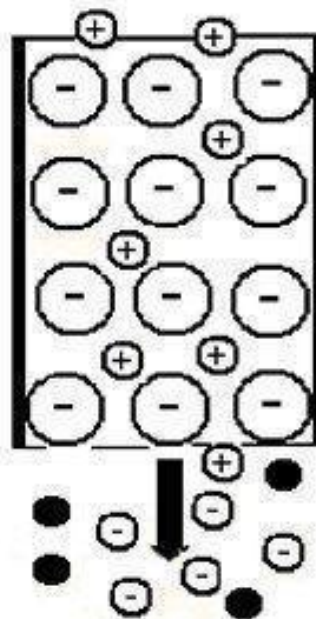
- В качестве сорбента используется Сефароза (Белок А)
- В качестве буфера используется PBS (Phosphate-buffered saline)

# Ионообменная хроматография.

Разделяемая смесь



*a*

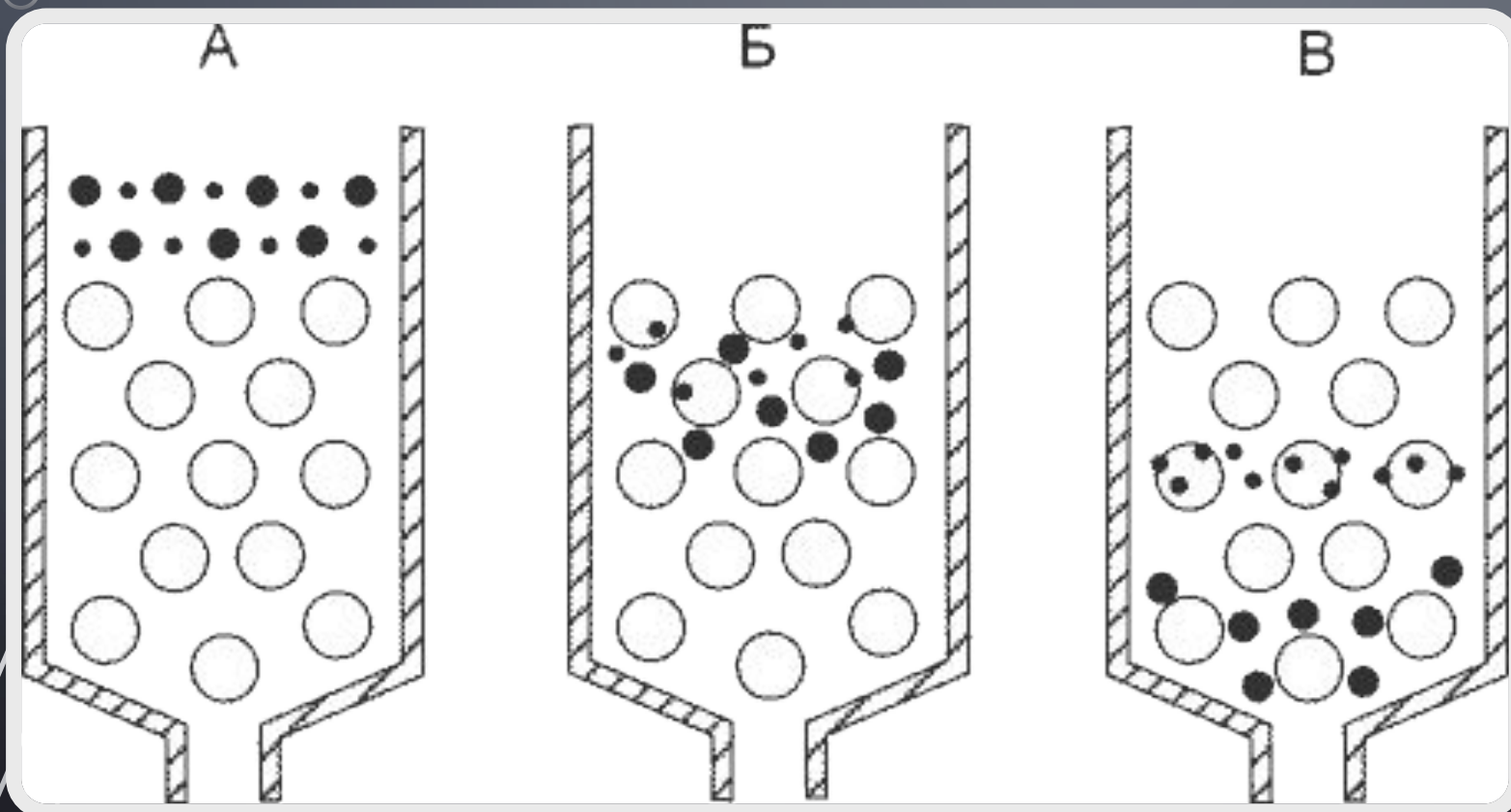


*б*

Смесь с вычетом адсорбированных ионов

- В качестве сорбента используется карбоксиметилцеллюлоза
- В качестве буфера используется гидрофосфат натрия.

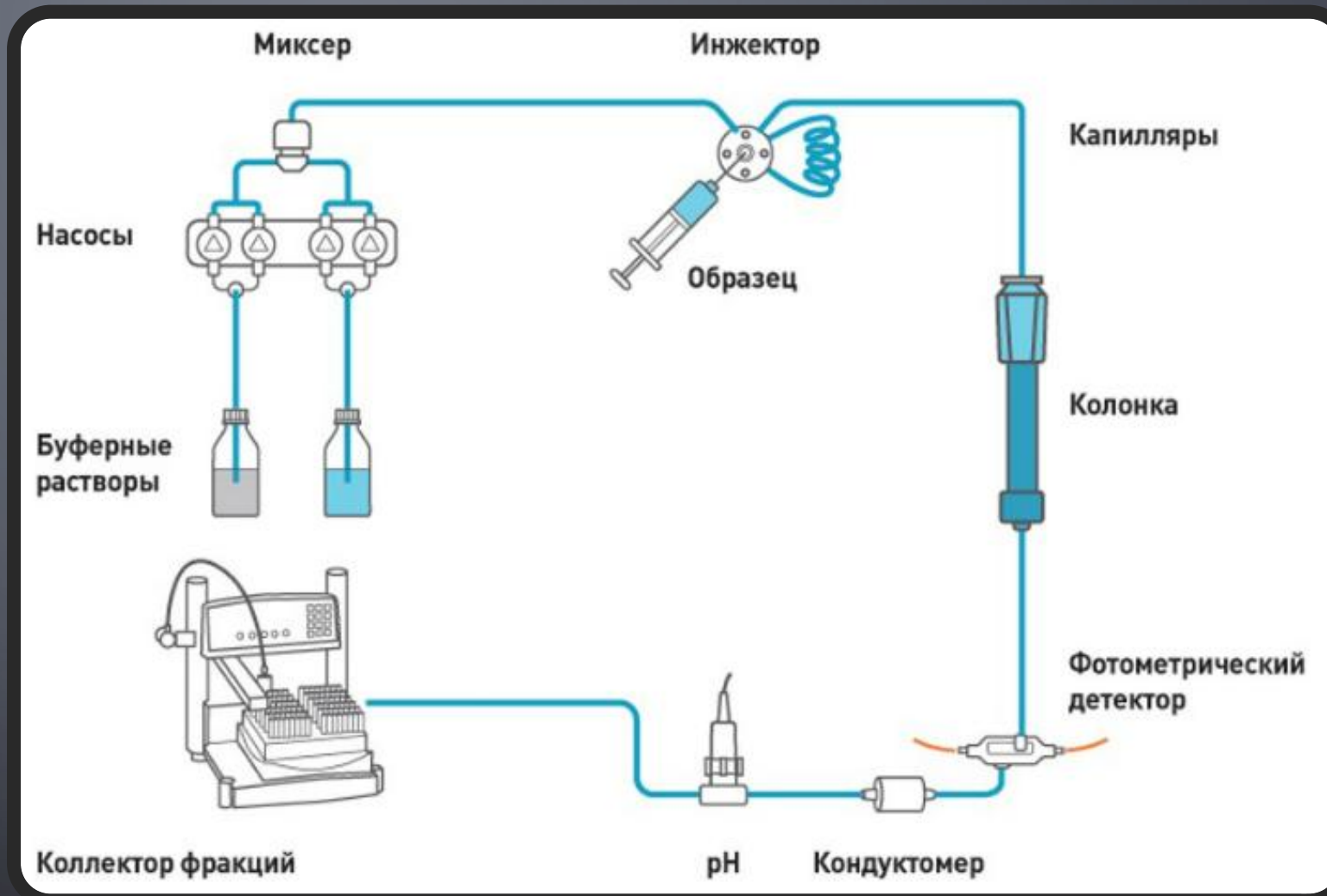
# Эксклюзионная хроматография. (Гель-фильтрация)



- В качестве сорбента мы используем силикагель
- В качестве буфера можно использовать тот же буфер что и в первом этапе



# АППАРАТНОЕ ОСНАЩЕНИЕ ХРОМАТОГРАФА



Коллектор фракций

pH

Кондуктомер

# НЕОБХОДИМОЕ АППАРАТНОЕ ОСНАЩЕНИЕ

Ионообменная  
хроматография

- используется специальный хроматограф, который делает одновременно несколько видов анализов, изучает воду на присутствие примесей.

Аффинная  
хроматография

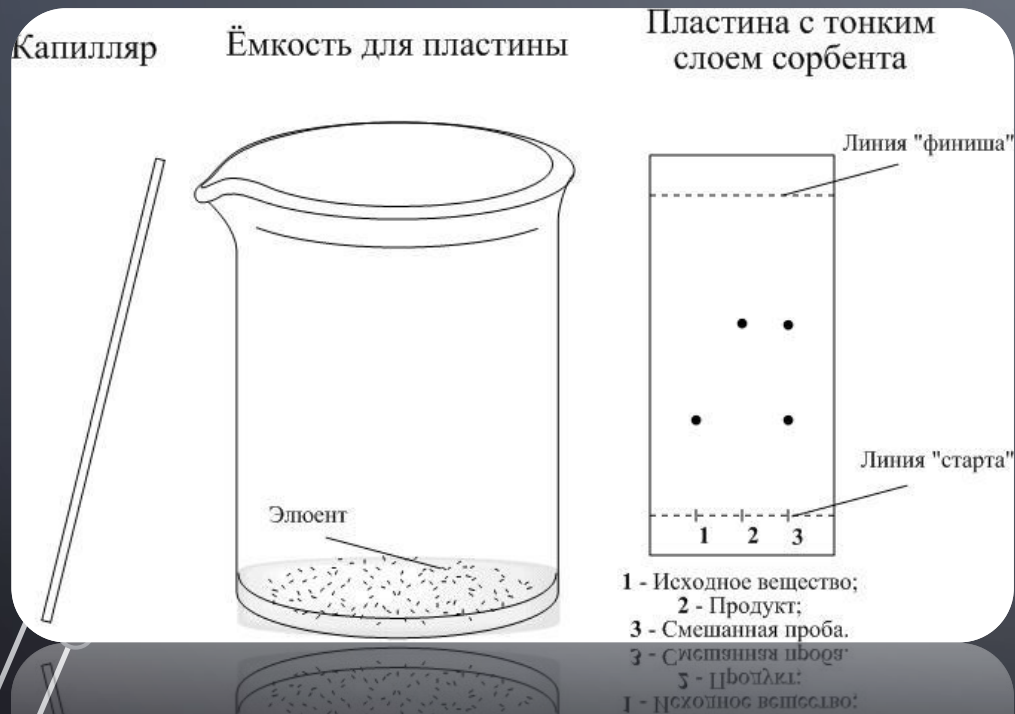
- Классический жидкостный хроматограф и пресущие ему комплектующие: колонки разных размеров, насосы высокого давления, рН-метр, и т.д.

Эксклюзионная  
хроматография

- Основной особенностью прибора является хроматографическая колонка которая как правило больше чем колонки для других методов. Колонка предварительно наполнена сорбентом.

# МЕТОД КОНТРОЛЯ ЧИСТОТЫ АНТИТЕЛ

## Тонкослойная хроматография



Для метода контроля очистки антител используется тонкослойная хроматография. Визуальное сравнение подвижности и характера визуализации (цвета, флуоресценции) образца и неких стандартов даёт информацию о природе анализируемого вещества, а интенсивность зоны характеризует его количество. Количественная оценка в высокопроизводительной ТСХ проводится по цифровым изображениям после проведения эксперимента согласно стандартизированным методикам. Данная хроматография позволяет с точностью до 99% определить частоту исследуемого образца.

# ВЫВОДЫ

1. Рассмотрено строение антител.
2. Рассмотрена очистка рекомбинантных антител при помощи: аффинной, ионообменной и эксклюзионной хроматографий.
3. Изучено аппаратное оснащение хроматографа.
4. Приведён метод контроля чистоты антител.
5. Сделаны выводы.

# СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

<http://www.chem.msu.su/rus/teaching/kolman/288.htm>

<https://www.monographies.ru/ru/book/section?id=9922>

<https://biocommerce.ru/spravochnik-po-tehnologiyam/antitela-reafinity-podrobno-ob-ih-ispolzovanii-v-protochnoy-tsitometrii/>

<https://pharmacopoeia.ru/glava-10-razrabotka-proizvodstvo-ustanovlenie-harakteristik-i-spetsifikatsii-monoklonalnyh-antitel-i-ih-proizvodnyh/>

<https://yandex.ru/turbo/ru.wikipedia.org/s/wiki/%D0%98%D0%BE%D0%BD%D0%BE%D0%BE%D0%B1%D0%B5%D0%BD%D0%BD%D0%B0%D1%8F%D1%85%D1%80%D0%BE%D0%BC%D0%B0%D1%82%D0%BE%D0%B3%D1%80%D0%B0%D1%84%D0%B8%D1%8F>

<https://minzdrav.gov.ru/ministry/61/11/materialy-po-farmakopee>

[https://kpfu.ru/staff\\_files/F2067514068/Chromatographia\\_metodichka.pdf](https://kpfu.ru/staff_files/F2067514068/Chromatographia_metodichka.pdf)

[https://www.news-medical.net/life-sciences/Hydrophobic-Interaction-Chromatography-\(HIC\).aspx](https://www.news-medical.net/life-sciences/Hydrophobic-Interaction-Chromatography-(HIC).aspx)





# СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

ВЫПОЛНИЛИ ОБУЧАЮЩИЕСЯ ШКОЛЫ N1601:

БОЛЬШУНОВ ИВАН АЛЕКСЕЕВИЧ, УЧЕНИК 10 «А»  
КЛ.

ПОДУСТ ИЛЬЯ ВИКТОРОВИЧ, УЧЕНИК 10 «А» КЛ.