



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.

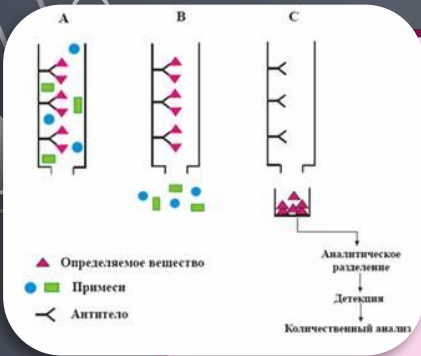


СТРОЕНИЕ И ФУНКЦИИ АНТИТЕЛ



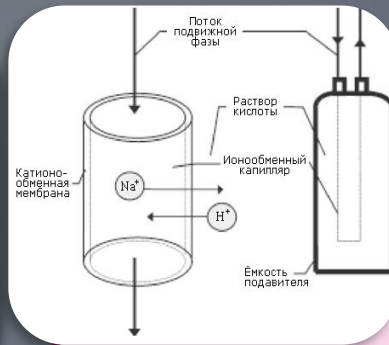
Изотип	Структура	Главная иммунная функция	Распределение
IgA	Мономер димер	Нейтрализация	Внеклеточная жидкость
IgD	Мономер	Функция неясна	В основном связан с В-клетками
IgE	Мономер	Активация тучных клеток	Тучные клетки под поверхностями эпителия
IgG	Мономер	Нейтрализация, опсонизация, активация системы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

ВИДЫ ХРОМАТОГРАФИЙ



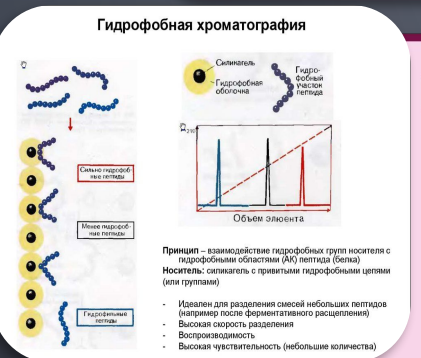
АФФИННАЯ

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



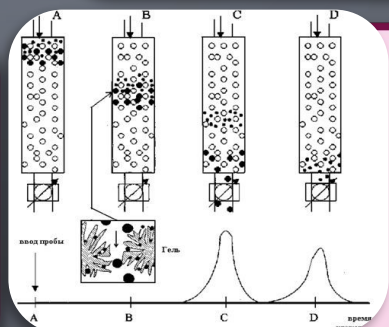
ИОННАЯ

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



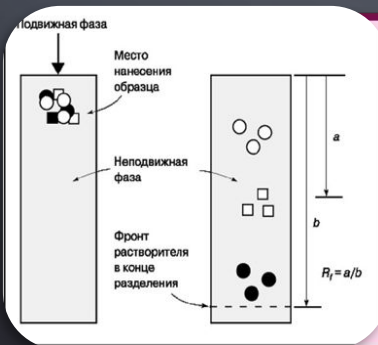
ГИДРОФОБНАЯ

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.

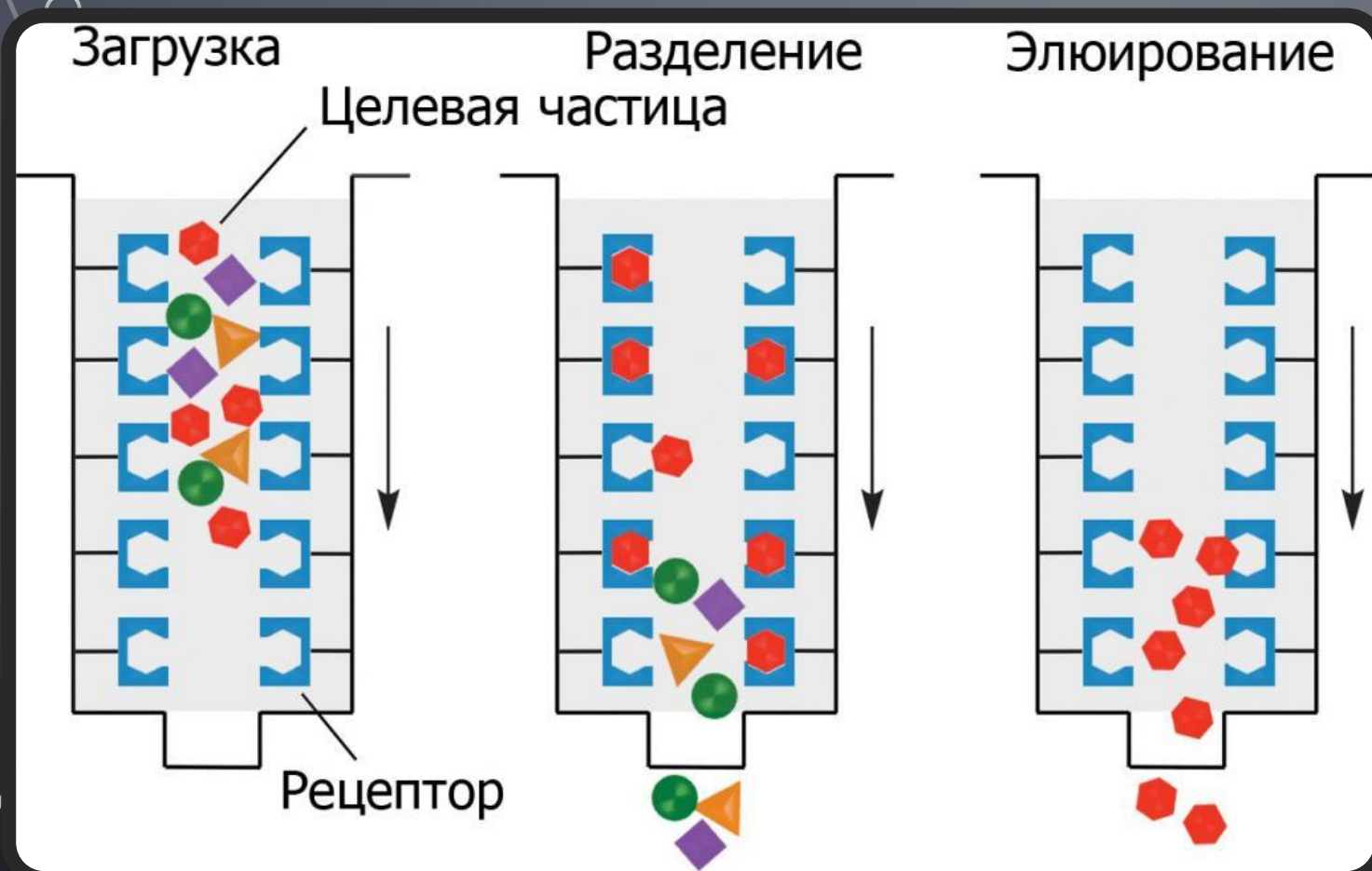
ХОД РАБОТЫ

**Аффинная
хроматография**

Ионообменная
хроматография

Эксклюзионная
хроматография

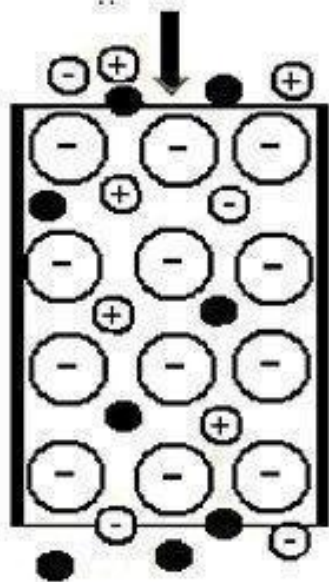
Аффинная хроматография



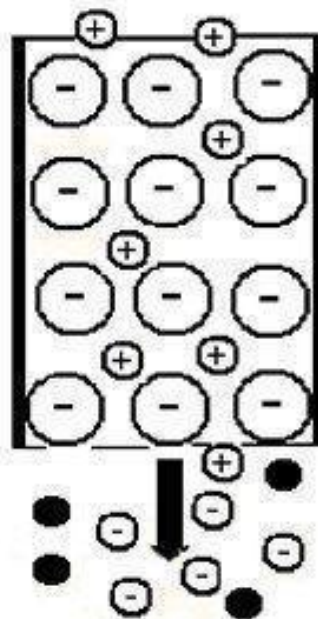
- В качестве сорбента используется Сефароза (Белок А)
- В качестве буфера используется PBS (Phosphate-buffered saline)

Ионообменная хроматография.

Разделяемая смесь



a

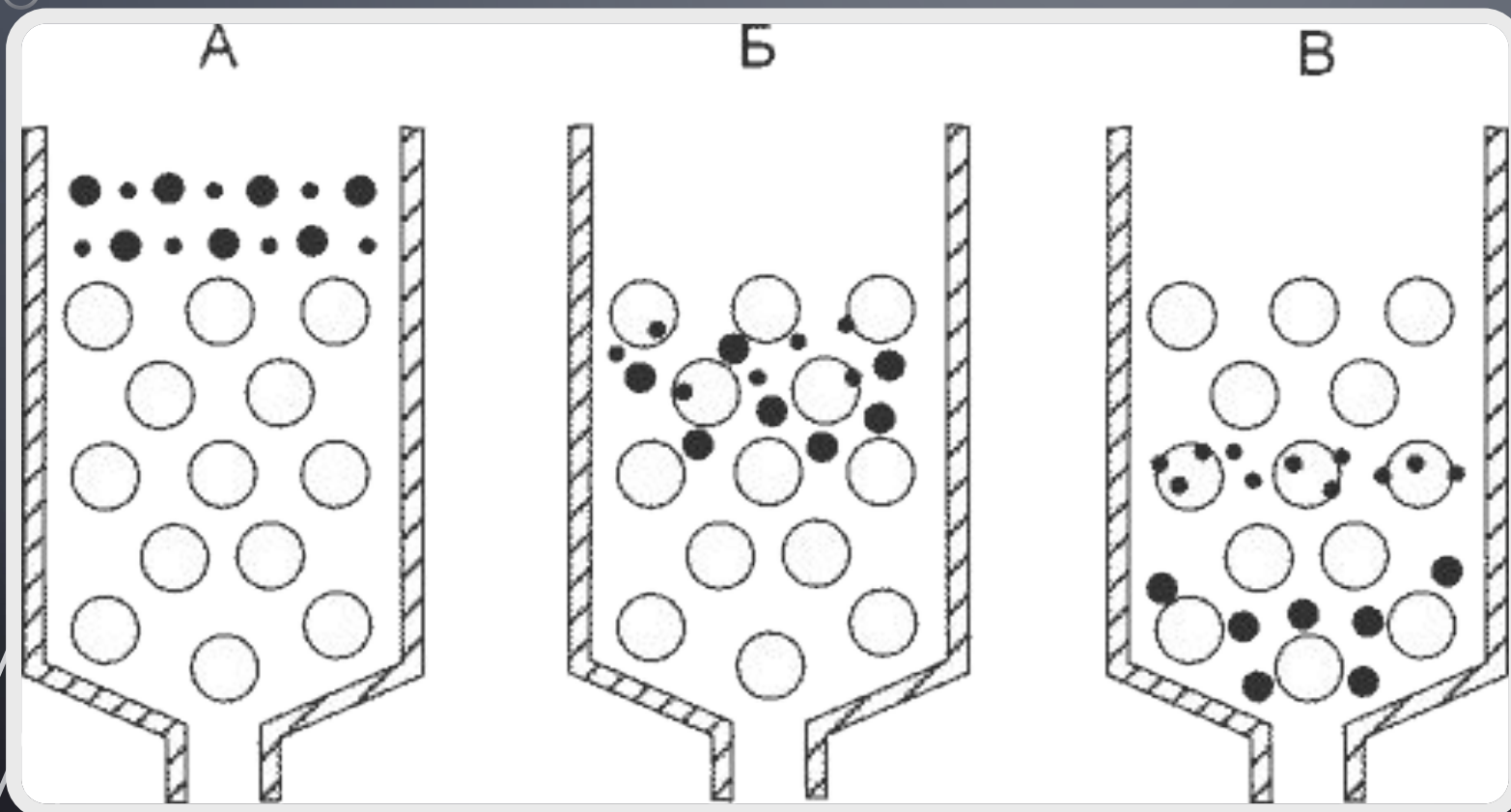


б

Смесь с вычетом адсорбированных ионов

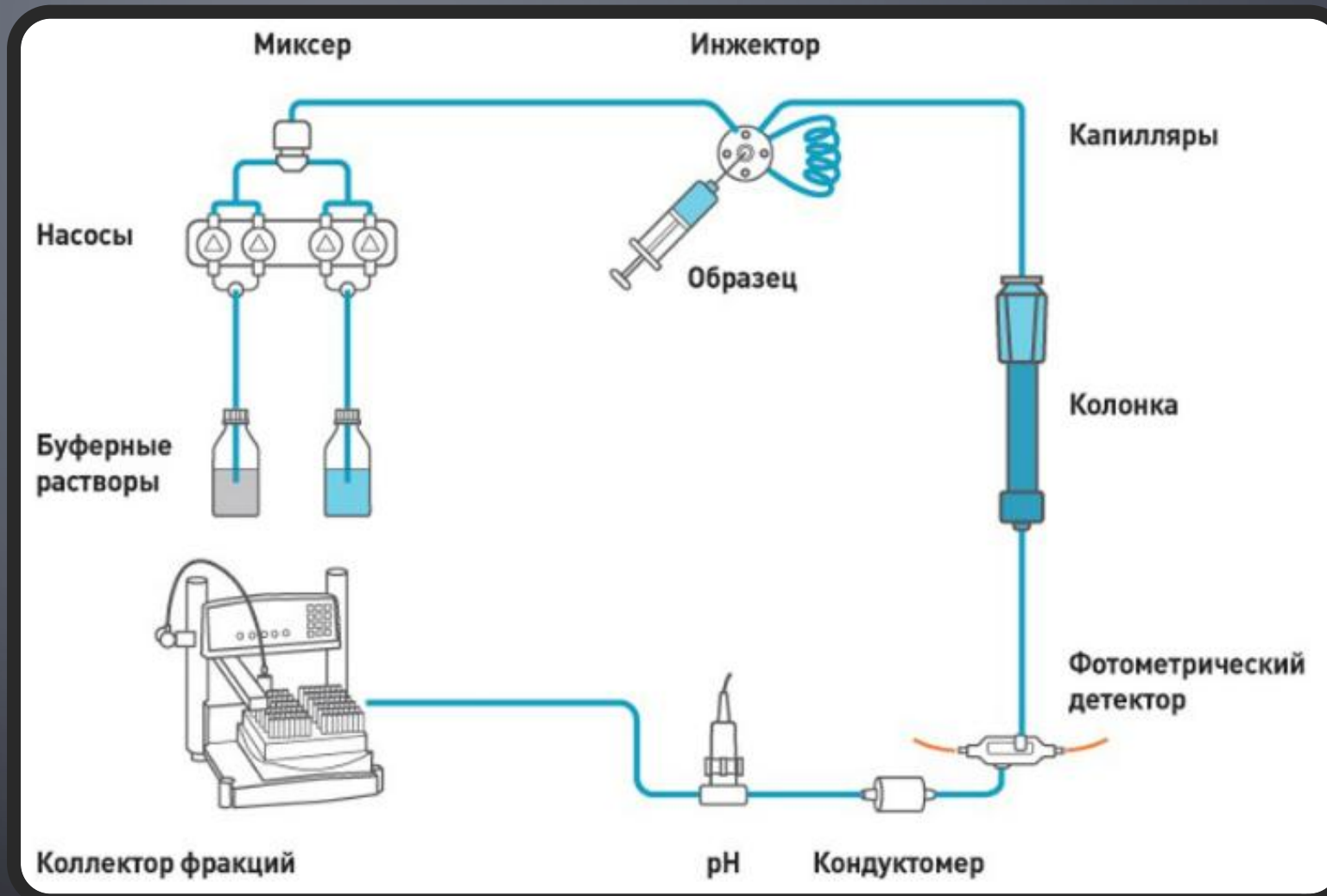
- В качестве сорбента используется карбоксиметилцеллюлоза
- В качестве буфера используется гидрофосфат натрия.

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-protchnoy-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://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 №1601:

БОЛЬШУНОВ ИВАН АЛЕКСЕЕВИЧ, УЧЕНИК 10 «А»
КЛ.

ПОДУСТ ИЛЬЯ ВИКТОРОВИЧ, УЧЕНИК 10 «А» КЛ.