

Связывание аутореактивных антител в сыворотках больных пузырчаткой отдельными рекомбинантными фрагментами экстрацеллюлярного домена десмоглеина человека 3-его типа

Научный руководитель – Кирпичников Михаил Петрович

Ларина Екатерина Николаевна

Кандидат наук

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Москва, Россия

E-mail: Ekaterina.iljina.7@yandex.ru

Аутоиммунное заболевание пузырчатка характеризуется тяжело протекающим буллезным дерматозом кожи и/или слизистых оболочек [1]. В результате связывания аутореактивных антител с внеклеточной частью основного структурного белка десмосом, десмоглеина 3-его типа (Dsg3), происходит разрушение гомофильного контакта между соседствующими эпителиальными клетками, что приводит к развитию акантолиза [2]. Получение отдельных фрагментов экстрацеллюлярного домена Dsg3 позволит проводить иммунологическую характеристику сывороток больных пузырчаткой и определять специфику аутоантител у конкретного пациента. Для этой цели были получены четыре отдельных иммунодоминантных фрагмента экстрацеллюлярного домена Dsg3 в формате гибридных белков с Fc-доменом IgG1 человека - EC1-Fc, EC2-Fc, EC3-Fc, EC4-Fc. С помощью полимерно-цепной реакции были отдельно амплифицированы фрагменты ДНК, кодирующие каждый EC-фрагмент и Fc-домен, которые на следующем этапе были объединены методом SOE-ПЦР. Экспрессионные кассеты EC1-Fc, EC2-Fc, EC3-Fc, EC4-Fc, содержащие нативный лидерный пептид Dsg3 человека и пропептид (P32926 из базы данных UniProt) были клонированы в вектор pcDNA 3.4 по сайтам NheI/XhoI. Нарботка целевых белков проводилась путем транзientной экспрессии в клетках CHO, с последующей очисткой методом аффинной хроматографии на протеин А-сефарозе. Анализ чистоты и соответствия рассчитанной молекулярной массе белков EC1-Fc, EC2-Fc, EC3-Fc, EC4-Fc осуществляли с помощью гель-фильтрационной хроматографии и электрофоретическим методом. Определение аутоиммунного профиля сывороток больных пузырчаткой, с подтвержденным диагнозом, было выполнено путем двухэтапного конкурентного ИФА на твердой фазе с оценкой процентной доли аутоантител к конкретному фрагменту экстрацеллюлярного домена Dsg3. Подбор оптимальной сорбционной концентрации исследуемых белков проводили с помощью непрямого иммуноферментного анализа.

Работа была поддержана Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (Соглашение №075-15-2019-1942, уникальный идентификатор проекта RFMEFI60719X0325).

Источники и литература

- 1) Koga H., et al. Desmoglein 3, its pathogenecity and a possibility for therapeutic target in pemphigus vulgaris // *Expert Opin Ther Targets*. 2013. No. 3. P. 293-306.
- 2) Wan H. Desmoglein-3 // Choi S. *Encyclopedia of Signaling Molecules*. Springer, Cham. 2016. DOI 10.1007/978-1-4614-6438-9_101583-1.