

**Получение и валидация гибридных линий клеток, продуцирующих
моноклональные антитела к белку HMGB1**

Научный руководитель – Гужова Ирина Владимировна

Марченко Дарья Максимовна

Аспирант

Институт цитологии РАН, Санкт-Петербург, Россия

E-mail: berbimot@yandex.ru

Введение. Онкологические заболевания остаются глобальной проблемой здравоохранения из-за высокого риска рецидива, возникающего вследствие неполного уничтожения опухолевых клеток после терапии [1]. Иммуногенная гибель клеток сопровождается высвобождением DAMPs-молекул, включая белок теплового шока HSP70 и ядерный белок HMGB1 [2]. Ранее коллективом лаборатории было показано, что под действием химиотерапии в опухолевых клетках образуется комплекс HSP70-HMGB1, способный стимулировать их репопуляцию, что создает предпосылку для развития рецидива [3]. Для изучения механизмов действия HMGB1 и его комплекса с HSP70, а также для разработки диагностических тест-систем необходим надежный инструмент — моноклональные антитела к HMGB1.

Цель исследования — получение стабильных гибридных линий, продуцирующих моноклональные антитела к белку HMGB1, и валидация их специфичности.

Материалы и методы. Мышей BALB/c иммунизировали рекомбинантным HMGB1 с адьювантом Фрейнда. Контроль иммунного ответа осуществляли непрямой ИФА и вестерн-блоттингом. Для оценки распознавания комплекса HSP70-HMGB1 применяли «сэндвич»-ИФА: поликлональные антитела к HMGB1 использовали как захватывающие, биотинилированные поликлональные антитела к HSP70 — как детектирующие. Комплекс получали инкубацией рекомбинантных белков HSP70 и HMGB1 в молярных соотношениях (1:1, 1:2, 1:3, соответственно) в PBS. Слияние спленоцитов мыши-донора с клетками миеломы линии NS0/1 проводили с использованием полиэтиленгликоля, селекцию гибридом — в НАТ-среде. Первичный скрининг супернатантов выполняли непрямой ИФА.

Результаты. В результате иммунизации получены поликлональные сыворотки к HMGB1, специфичность которых подтверждена методами непрямого ИФА и вестерн-блоттинга. Посредством «сэндвич»-ИФА показана способность антител распознавать комплекс HSP70-HMGB1, что демонстрирует их потенциальную применимость в тест-системах. Проведено слияние спленоцитов с клетками миеломы; получены гибридные клоны, растущие в НАТ-среде. По результатам первичного скрининга отобрано 12 клонов-продуцентов антител к HMGB1.

Заключение. Итогом работы стало получение гибридом — продуцентов моноклональных антител к HMGB1. Полученные моноклональные антитела могут быть использованы для фундаментальных исследований роли HMGB1 и его комплекса с HSP70 в посттерапевтической репопуляции опухолевых клеток, а также для разработки диагностических систем прогноза рецидивов опухолей.

Источники и литература

- 1) Mahvi D.A. et al. Local Cancer Recurrence: The Realities, Challenges, and Opportunities for New Therapies // CA: a cancer journal for clinicians. 2018. Vol. 68. № 6. P. 488-505.
- 2) Ahmed A., Tait S.W.G. Targeting immunogenic cell death in cancer // Molecular oncology. 2020. Vol. 14. № 12. P. 2994-3006.

- 3) Sverchinsky D. V et al. Autocrine regulation of tumor cell repopulation by Hsp70-HMGB1 alarmin complex // Journal of Experimental & Clinical Cancer Research. 2023. Vol. 42. № 1. P. 279.