

УДК 573.6

Д.В. Семёнова (6 курс, каф. ФХОМ),
В.А. Головаченко, зав. лаб. биотехнологии ЗАО «Алкор Био»

ВЫБОР МОНОКЛОНАЛЬНЫХ АНТИТЕЛ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СВОБОДНОЙ β - СУБЪЕДИНИЦЫ ХОРИОНИЧЕСКОГО ГОНАДОТРОПИНА ЧЕЛОВЕКА

В течение последних двадцати лет пренатальный скрининг синдрома Дауна проводился во втором триместре беременности посредством иммуноферментного измерения концентрации двух маркеров в крови беременных женщин: альфа-фетопротеина и хорионического гонадотропина. Позже к ним добавили и неконъюгированный эстриол. Лабораторный анализ по этим трём позициям в совокупности с учётом возраста и наследственности матери позволял рассчитать вероятность рождения больного ребёнка с точностью 96%. В начале 90-х годов прошлого столетия оказалось, что для проведения пренатального скрининга в первом триместре можно использовать белок РАРР-А (pregnancy-associated plasma protein A), свободную β - субъединицу хорионического гонадотропина человека и ингибин а. За последнее десятилетие в мире было проведено большое количество клинических проверок целесообразности использования этих маркеров для оценки риска рождения ребёнка, больного синдромом Дауна, которые показали, что скрининг-тест в первом триместре беременности с использованием предложенных маркеров позволяет оценить вероятность рождения больного ребёнка с не меньшей точностью, чем ранее используемый анализ во втором триместре. Однако в силу различных причин скрининг синдрома Дауна в первом триместре в России не проводится до сих пор.

Целью работы является создание иммуноферментной системы для количественного определения концентрации свободной β - субъединицы хорионического гонадотропина в крови беременных женщин. Для этого необходимо было исследовать моноклональные антитела к β - субъединице хорионического гонадотропина человека (ХГЧ) на способность специфически связывать β - субъединицу ХГЧ в сыворотке и образовывать комплекс с антигеном для создания иммуноферментной системы (ИФС).

В процессе разработки ИФС были исследованы семь моноклональных антител (мкАТ). Три из них – высоко специфичные к эпитопам β - субъединицы ХГЧ, скрытым α - субъединицей, и четыре - к полной молекуле ХГЧ с неизвестной субъединичной специфичностью. Экспериментальные измерения проводились в растворе очищенного антигена (АГ) (свободной β - субъединицы ХГЧ) в искусственном матриксе, имитирующем сыворотку человека. Исследование способности мкАТ связывать свободную β - субъединицу ХГЧ и образовывать комплекс мкАТ-АГ-мкАТ проводилось путём титрования антител и проведения иммуноферментного измерения одной концентрации АГ в экспериментальной среде. В результате проведённого исследования было показано, что все три мкАТ, специфичные только к свободной β - субъединице ХГЧ, могут образовывать комплексы мкАТ-АГ-мкАТ с двумя антителами, специфичными к полной молекуле ХГЧ, с одинаковым развитием сигнала при одних и тех же концентрациях. Таким образом были сформированы три макета ИФС для количественного определения концентрации β - субъединицы ХГЧ в крови беременных женщин, которые далее будут адаптированы к измерению всего диапазона концентраций β - субъединицы ХГЧ, встречающихся в клинической практике, и создан окончательный вариант системы для иммуноферментного измерения концентрации β - субъединицы ХГЧ в крови беременных женщин в первом триместре.