

## **Разработка технологий, базирующихся на использовании однодоменных антител ('nanobodies', наноантител), для исследований, диагностики и иммунотерапии.**

(лаборатория молекулярных биотехнологий)

В 2014-2017 г.г. можно выделить следующие опубликованные результаты, полученные коллективом лаборатории (часто при сотрудничестве с коллегами из других лабораторий). Впервые детально изучены структурные особенности различных IgG, содержащихся в сыворотке крови двугорбого верблюда *Camelus bactrianus* в сравнении с другими млекопитающими (рис. 1). Установлено, что неканонические антитела, состоящие из димера укороченной тяжелой цепи и не содержащие легких цепей (выделены красным на рис. 1), являются мажорным подклассом IgG одногорбого верблюда [1].

Продемонстрировано, что на основе однодоменных антител могут быть созданы новые иммуносорбенты для эффективной иммуоаффинной очистки/удаления белков из сложных протеомных смесей [2,5].

На основе получаемых однодоменных антител в лаборатории разработаны новые диагностические инструменты и новые подходы для борьбы с инфекциями [3,6], для создания анти-цитокиновых препаратов, действие которых ограничено определенным типом клеток-мишеней [4].

Описан новый эффективный метод параллельного и последовательного поэтапного генерирования однодоменных антител к различным богато представленным белкам сложного протеома (даже при отсутствии очищенных антигенов) на примере плазмы крови человека ([5], рис. 2).

[1] Тиллиб С.В., Вятчанин А.С., Муилдерманс С. Молекулярный анализ структуры особых антител *Camelus bactrianus*, состоящих только из тяжелых цепей. *Биохимия* 2014, том 79, вып. 12, с. 1687 – 1697.

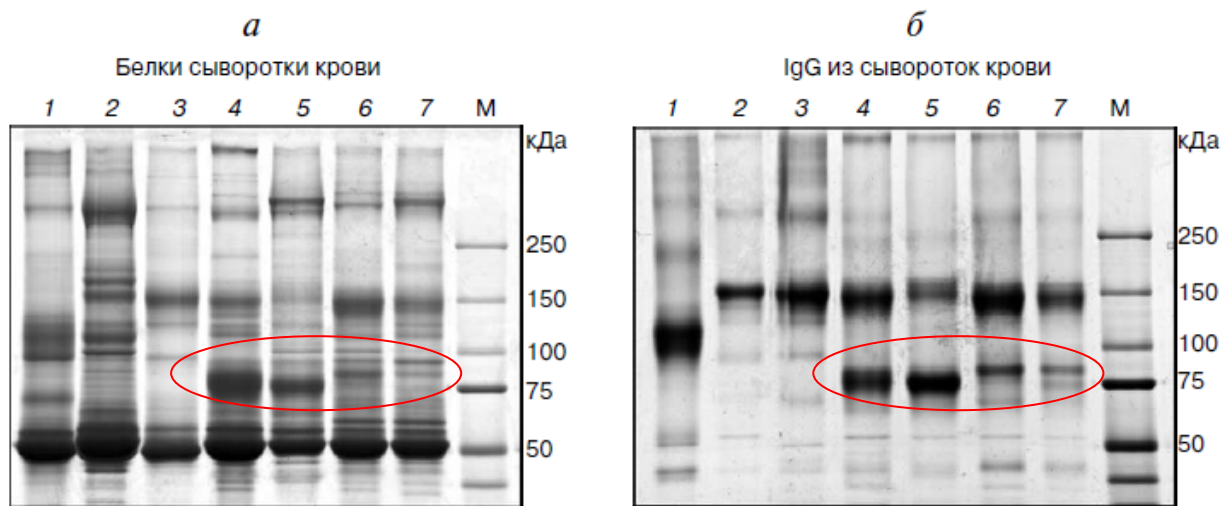
[2] Tillib S.V., Privezentseva M.E., Ivanova T.I., Vasilev L.F., Efimov G.A., Gurskiy Ya.G., Georgiev G.P., Goldman I.L., Sadchikova E.R. Single-domain antibody-based ligands for immunoaffinity separation of recombinant human lactoferrin from the goat lactoferrin of transgenic goat milk. *Journal of Chromatography B* 2014, V. 949-950, P. 48-57.

[3] Burmistrova D.A., Tillib S.V., Shcheblyakov D.V., Dolzhikova I.V., Shcherbinin D.N., Zubkova O.V., Ivanova T.I., Tukhvatulina A.I., Shmarov M.M., Logunov D.Y., Naroditsky B.S., Gintsburg A.L. Genetic Passive Immunization with Adenoviral Vector Expressing Chimeric Nanobody-Fc Molecules as Therapy for Genital Infection Caused by *Mycoplasma hominis*. *PLoS one* 2016 11(3):e0150958.

[4] Efimov G.A., Kruglov A.A., Khlopchatnikova Z.V., Rozov F.N., Mokhonov V.V., Rose-John S., Scheller J., Gordon S., Stacey M., Drutskaya M.S., Tillib S.V., Nedospasov S.A. Cell type-restricted anti-cytokine therapy: TNF inhibition from one pathogenic source. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 113(11):3006-3011.

[5] О. С. Горяйнова, Т. И. Иванова, М. В. Рutowская, С. В. Тиллиб. Метод параллельного и последовательного генерирования однодоменных антител для протеомного анализа плазмы крови человека. *Молекулярная биология*, 2017, т. 51, № 6, с. 985–996.

[6] С.В. Тиллиб, Е.Ю. Моргунова, Т.И. Иванова, Е.А. Королева, М.В. Рutowская, Н.А. Зигангирова. Однодоменные адаптированные антитела против *Chlamydia trachomatis*, подавляющие развитие хламидийной инфекции в условиях *in vitro*. *Биомедицинская химия*, 2017, т. 63, с. 461-466.



**Рис. 1.** Анализ IgG в сыворотках крови различных млекопитающих с помощью электрофореза в полиакриламидном геле в невосстанавливающих условиях. *а* – Разделение белков исходных сывороток крови; *б* – разделение белков, преимущественно иммуноглобулинов класса G, выделенных из этих сывороток с помощью аффинной хроматографии на смеси белок А- и белок G-сефароз (1 : 1). Цифры сверху обозначают вид млекопитающего, белки крови которого представлены в соответствующей дорожке геля: 1 – кролик, 2 – мышь, 3 – человек, 4 – двугорбый верблюд (*C. bactrianus*), 5 – одногорбый верблюд (*C. dromedarius*), 6 – лама (*Lama glama*), 7 – альпака (*Vicugna pacos*). М – смесь маркерных белков с известными молекулярными массами размеров (кДа)



**Рис. 2.** Схема процедуры последовательного многоэтапного генерирования однодоменных антител к мажорным белкам плазмы крови человека