

Индукция гуморального ответа на полисахариды с использованием ДНК содержащих адъювантов

Свирицкая Е.В., Кишинец Р., Решетов П.Д.

Институт биоорганической химии им М.М.Шемякина и Ю.А.Овчинникова
РАН, Москва, Россия

Проблема разработки вакцин для индукции гуморального IgG опосредованного ответа на полисахаридные антигены связана с недостаточностью сигналов для клеток адаптивного иммунитета. Это приводит к повышению титров антител IgM класса при низком уровне специфичного IgG. Преимущество вакцин, индуцирующих IgG, связано со способностью В-клеток проводить гипермутацию вариабельных участков IgG, что приводит к повышению аффинности антител. Высоко аффинные IgG антитела эффективнее элиминируют из организма патогены, имеющие полисахаридную стенку.

Цель В данной работе вызывали формирование IgG антител у мышей линии СВА на олигосахариды хитозана (Ch) различной молекулярной массы и на стенку и компоненты стенки бактерий *Micrococcus Lyzodekticus* (ML). В качестве адъюванта использовали плазмиду pBK-CMV, содержащую цитомегаловирусный промотор (CMV).

Методы В работе использовали нерастворимые олигосахариды Ch с молекулярной массой 17, 28 и 40 кДа, а также карбоксиацелированные растворимые Ch (сCh) той же массы. Для индукции ответа на бактериальные полисахариды использовали взвесь бактерий, мономер бактериальной стенки глюкозаминилмурамилдипептид (ГМДП) или только дисахарид мурамовой кислоты (ДС). Плазмиду pBK-CMV выделяли с использованием набора Promega. Мышам вводили п/к смесь отдельных олигосахаридов с ДНК в соотношении 10:1, соответственно, в количестве 110 мкг вещества/мышь. В контроле мышам вводили олигосахариды без ДНК. Инъекции олигосахаридов с ДНК, растворенных в воде, повторяли ежедневно в течение 5 дней. Сыворотку забирали в динамике ответа, начиная с 10 дня после

первой инъекции. Продукция IgG оценивали с помощью иммуноферментного анализа, где на подложку наносили олигосахариды Ch или ML.

Результаты Показали, что введение ДНК в качестве адъюванта приводит к значительному усилению продукции IgG, специфичных к олигосахаридам. Самый сильный ответ был получен на Ch молекулярной массой 28 кДа. Самый слабый ответ был выявлен на ДС. Повторный курс иммунизации значительно усиливал IgG ответ. В среднем титры IgG антител достигали 1:5000 на Ch 28 кДа и 1:500 на ДС. Иммунизация только Ch также вызывала продукцию IgG антител в низком титре (1:100). Иммунизация, ML, ГМДП и ДС не вызывала продукции IgG в контрольной группе. Введение ДНК позволило получить IgG на олигосахариды бактериальной стенки ML.

Выводы Таким образом показано, что введение в препараты олигосахаридов ДНК в качестве адъюванта позволяет усилить продукцию IgG антител.