

Природные и синтетические олигосахариды для обнаружения антител методом поляризационного флуоресцентного анализа

Жердев Дмитрий Олегович

Научные руководители: д.х.н., проф. Еремин С. А., к.х.н. Мухаметова Л. И.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова,
Химический факультет, Москва, Россия

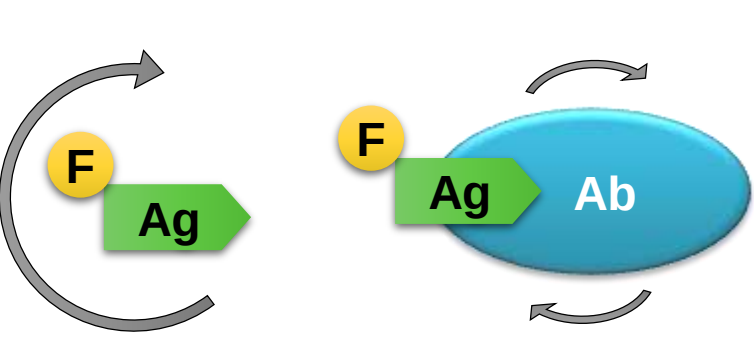
Введение

В настоящее время бруцеллез, вызываемый бактериями рода *Brucella*, является одним из наиболее опасных зоонозов [1]. Так как проблема создания эффективной и безопасной вакцины еще не решена, основные усилия направлены на профилактику заболевания. Следовательно, разработка простых, эффективных и недорогих методов тестирования на бруцеллез является актуальной задачей.

Цель

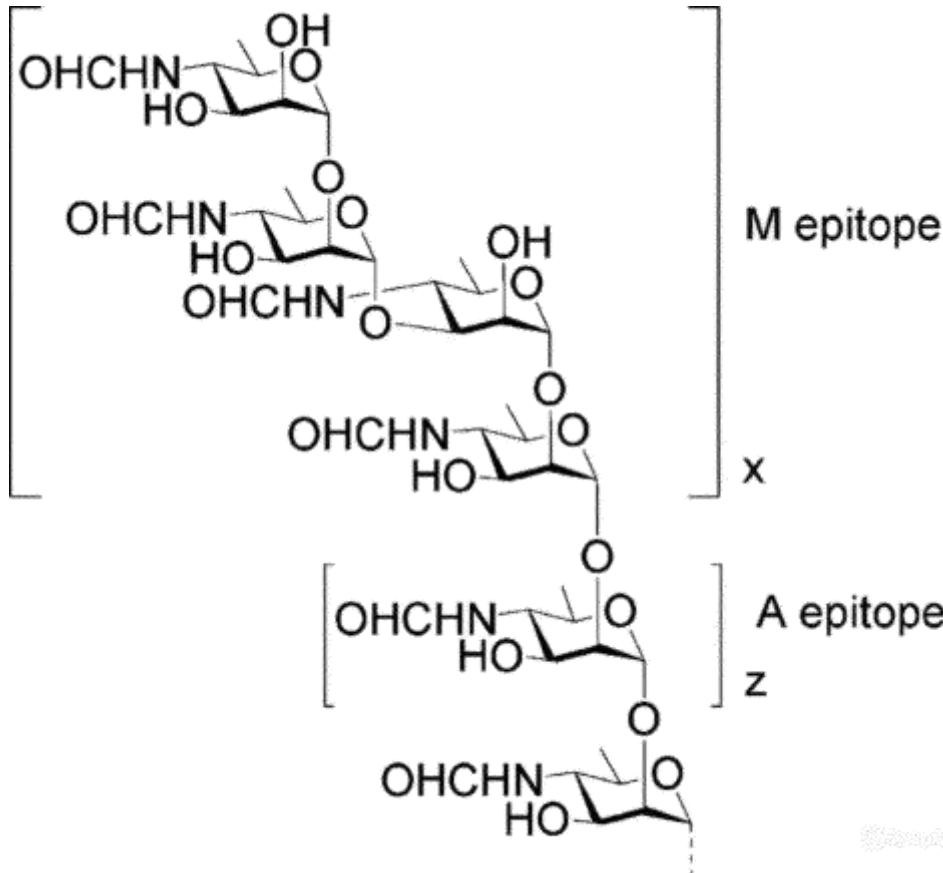
Цель работы заключается в разработке и оптимизации методик определения бруцеллезных антител методом поляризационного флуоресцентного анализа (ПФА) с использованием меченных флуоресцеином природного О-полисахарида и структурно аналогичных синтетических олигосахаридов.

Материалы и методы

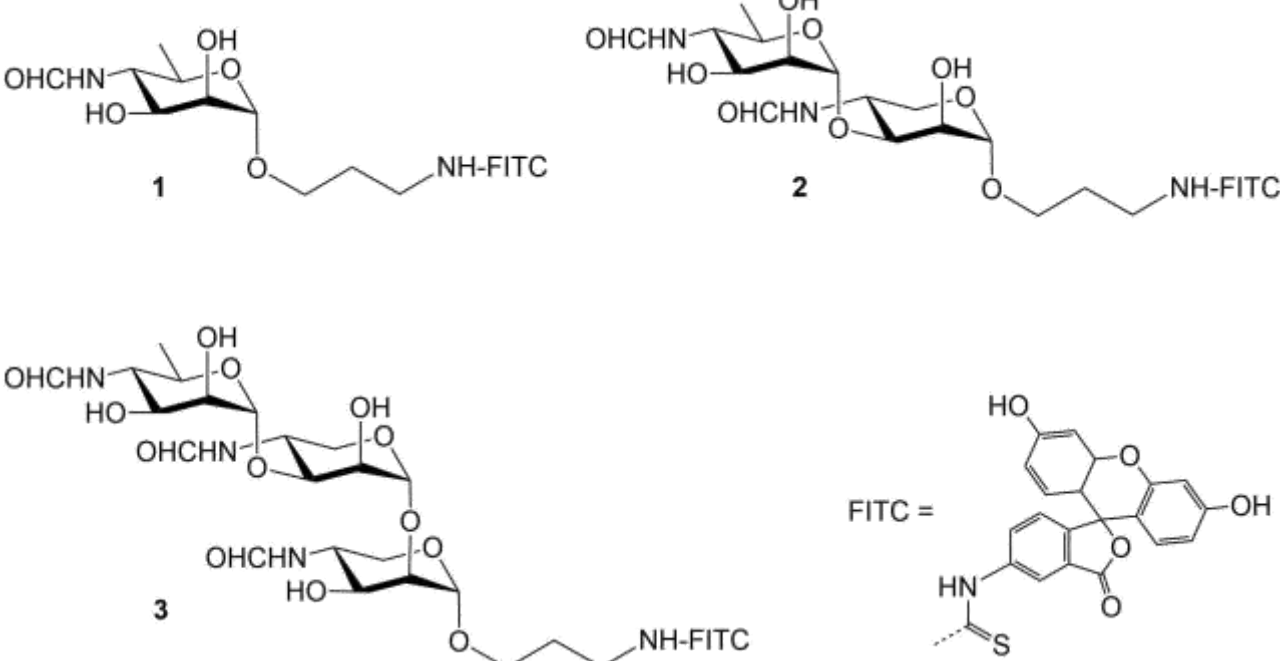


Принцип метода ПФА:
несвязанный конъюгат (Ag-F) дает низкий сигнал (из-за низкой молекулярной массы), а при связывании с антителами сигнал увеличивается (масса антитела значительно больше)

Конъюгат ОПС-ФИТЦ получали реакцией флуоресцеинизотиоцианата с природным О-антигеном, предоставленным нам ФКП «Курская биофабрика – фирма БиоК». Синтетические олигосахариды были предоставлены лабораторией гликоконъюгатов ИОХ РАН.



Структура О-антигена S-штаммов бруцелл [2]

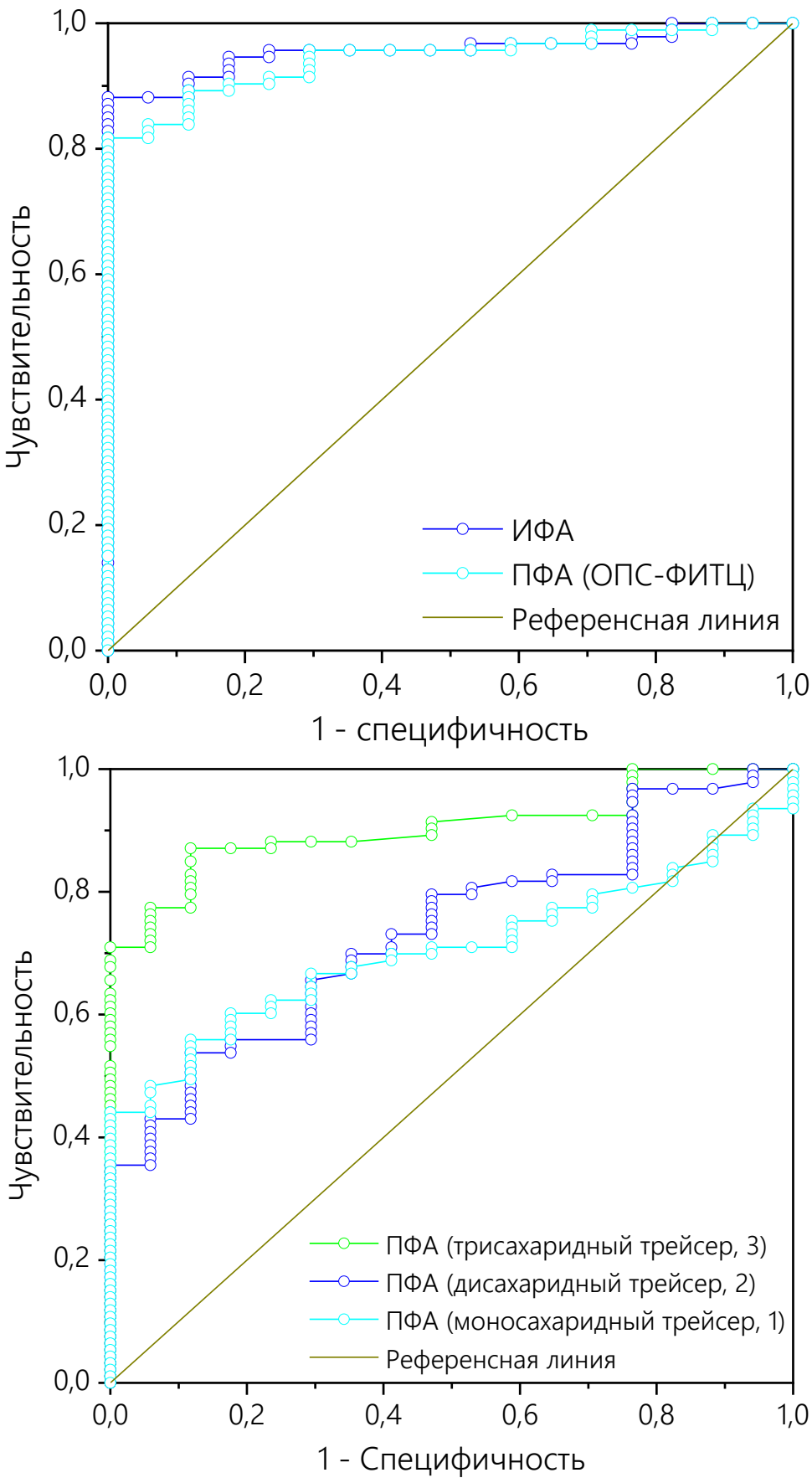


Структуры моно- (1), ди- (2) и трисахаридного (3) конъюгатов

Для исследования были взяты 110 образцов сывороток крови крупного рогатого скота (КРС), предоставленные ФГБУ «ВГНКИ» и охарактеризованные стандартными серологическими методами.

Для сопоставления результатов все сыворотки были проверены методом ИФА с использованием коммерческого набора от «Курской биофабрики».

Результаты



Характеристики	конъюгат 3 (три-)	ОПС-ФИТЦ	ИФА
Площадь под ROC-кривой (AUC)	0,904	0,944	0,956
Cut-off, mP	71,3	110,2	-
Чувствительность, %	87	89	88
Специфичность, %	88	88	100
Точность, %	87	89	90

Диагностические характеристики ПФА практически не уступают ИФА, однако ПФА обладает большей экспрессностью и возможностью анализа значительного количества образцов.

Преимуществами синтетического трисахарида являются:

- упрощение и удешевление анализа из-за отсутствия сложного и длительного выделения О-антигена из бактериальной массы;
- получение воспроизводимых результатов за счет строго заданной структуры конъюгата.

Выводы

- Получены флуоресцентно меченные конъюгаты природного О-антигена и синтетических олигосахаридов;
- Разработаны и оптимизированы методики ПФА для детекции антител на бруцеллез;
- Показаны высокие диагностические характеристики метода и его преимущества.

Библиография

- Диагностика бруцеллеза методом поляризации флуоресценции / Л. И. Мухаметова, С. А. Еремин, Д. О. Жердев и др. // Ветеринария. 2022. Т. 25, № 6. С. 25–30
- Applying a Fluorescence Polarization Assay for Detection of Brucellosis in Animals Using the Fluorescently Labeled Synthetic Oligosaccharides as Biosensing Tracer. / Mukhametova, L.I.; Zherdev, D.O.; Eremin, S.A.; Kuznetsov, A.N.; Yudin, V.I.; Sclyarov, O.D.; Babicheva, O.V.; Motorygin, A.V.; Tsvetkov, Y.E.; Krylov, V.B.; et al. // *Biosensors* **2024**, 14, in press.