

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 577.114, 547.917

©Коллектив авторов

ПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА IgA1 ПРОТЕАЗЫ МЕНИНГОКОККОВ

О.В. Котельникова^{1}, А.П. Аллилуев², Е.Ю. Дрожжина¹,
И.С. Королева³, Е.А. Ситникова¹, А.А. Зинченко¹, Е.А. Гордеева¹,
Т.Д. Мелихова¹, Е.А. Нокель¹, Л.С. Жигис¹, В.С. Зуева¹,
О.А. Разгуляева¹, О.В. Серова¹, Е.Ю. Ягудеева¹, Л.Д. Румиш¹*

¹Институт биоорганической химии имени академиков
М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая 16/10; тел.: (495)335-33-22;
эл. почта: ovkot.2003@mail.ru

²Российский университет дружбы народов (медицинский факультет), Москва

³Городская инфекционная больница №2, Москва

Исследование ферментативных и протективных свойств рекомбинантной IgA1 протеазы в активной и мутантной формах показало, что активная форма IgA1 протеазы характеризуется видовой и типовой специфичностью в отношении иммуноглобулинов мыши и человека. Мутантная форма, не обладая ферментативной активностью, проявляла протективные свойства в отношении менингококковой инфекции, вызываемой менингококками серогрупп А, В и С, защищая мышей от летального заражения живой вирулентной культурой гетерологичных серогрупп менингококка. Полученные результаты позволяют рассматривать IgA1 протеазу в качестве перспективного препарата при создании поливалентной вакцины для защиты человека от менингококковой инфекции различной этиологии.

Ключевые слова: IgA1 протеаза, менингококковая вакцина, ферментативная активность, иммуногенность, протективность.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время менингит остаётся одним из самых тяжелых и опасных заболеваний. На долю менингитов серогрупп А, В и С приходится около 90% заболеваемости менингококковой инфекцией, а заболеваемость менингококком серогруппы В в европейских странах достигает 64% [1].

В то время как против менингококка серогрупп А и С уже давно применяются вакцины, созданные на основе их капсульных полисахаридов [2, 3], проблема эффективной вакцинопрофилактики менингококковой инфекции, вызываемой менингококком серогруппы В, до сих пор не решена. Использование в качестве антигена капсульного полисахарида этой серогруппы (по аналогии с полисахаридами серогрупп А и С)

оказалось невозможным. Созданию вакцины на основе наружных мембранных белков менингококка мешало разнообразие их антигенного состава [4].

В реестре зарегистрированных менингококковых вакцин ВОЗ не зафиксировано ни одного препарата против менингококка этой серогруппы (по данным Jordan report (2010)). Отсутствие эффективной вакцины против менингококка группы В препятствует ликвидации этой инфекции в нашей стране и за её пределами.

Перспективным направлением в разработке менингококковой вакцины против серогруппы В является попытка использования в качестве вакцинного препарата IgA1 протеазы, секретируемой менингококком и рядом других бактерий.

* - адресат для переписки

Известно, что сериновая IgA1 протеаза является одним из основных факторов вирулентности ряда патогенов, таких как *N. meningitidis*, *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, и некоторых других бактерий. Роль сериновой IgA1 протеазы сводится к расщеплению шарнирных участков секреторных иммуноглобулинов A1, которые в больших количествах присутствуют на слизистых оболочках и обеспечивают первую линию защиты организма-хозяина от бактериальных патогенов [8, 9]. Этот фермент обладает исключительной специфичностью в отношении IgA1 человека и некоторых приматов. К настоящему времени клонированы гены некоторых IgA1 протеаз, определены их аминокислотные последовательности, специфичность действия и структуры активного центра ферментов [5-9].

Как было показано ранее [10, 11], IgA1 протеаза как выделенная из культуры менингококка серогруппы A штамм A208, так и рекомбинантная, полученная на основе генома менингококка серогруппы B штамм H44/76, обладали идентичными свойствами и обеспечивали выраженную защиту мышей в опытах по заражению их живыми вирулентными культурами менингококков трёх основных эпидемических серогрупп. Однако указанный препарат обладает ферментативной активностью в отношении IgA1 человека, что может привести к нежелательным последствиям при расщеплении иммуноглобулина A1 на слизистых оболочках организма, например, к развитию воспалительной реакции.

Цель настоящей работы заключалась в исследовании протективных свойств рекомбинантной IgA1 протеазы в активной и мутантной формах, обладающих повышенными иммуногенными и защитными свойствами в отношении *Neisseria meningitidis* основных эпидемических серогрупп – A, B и C, но не обладающей ферментативной активностью в отношении IgA1 человека.

МЕТОДИКА

Препараты. В работе использовали рекомбинантные IgA1 протеазы в активной и мутантной формах, полученные в ИБХ РАН, как описано в предыдущих публикациях [11, 12], коммерческий комплексный иммуноглобулиновый препарат, КИП (Микроген НПО ФГУП, г. Москва), из которого выделяли IgA1 по методике [13];

белки-маркеры молекулярной массы, Protein Marker I (14-116) фирмы “AppliChem” (Германия), сыворотки людей, больных менингококковым менингитом, получали из образцов крови, взятой с информированного согласия пациентов (Городская инфекционная больница №2 г. Москва); здоровых доноров (кровь получали из банка данных Гематологического научного центра министерства здравоохранения и социального развития РФ); конъюгат пероксидаза-антитела козы к иммуноглобулинам IgA человека (“Sigma”, США), IgG человека (ИМТЕК, Россия).

Ферментативную активность IgA1 протеазы определяли с помощью иммуоферментного анализа (ИФА). В качестве субстрата использовали иммуноглобулин A1 человека, выделенный из препарата КИП. Для количественной оценки полученных результатов использовали разведения указанного иммуноглобулина A1 с известной концентрацией белка, начиная с 50 мкг/мл [14, 15].

Специфичность рекомбинантных IgA1 протеаз в активной и мутантной формах исследовали в присутствии иммуноглобулинов IgA1 и IgG человека. Для этого к 5 мкл раствора, содержащего 5 мкг IgA1 или IgG в фосфатно-солевом буфере (PBS), прибавляли 5 мкл раствора, содержащего 0,5 мкг рекомбинантной протеазы, и инкубировали реакционную смесь в течение 20 ч при температуре 30°C. Реакцию останавливали, добавляя к реакционной смеси 5 мкл додецилсульфата натрия (ДСН), содержащего 6% 1,4-дителиотреитола (масса/объём). Состав реакционной смеси анализировали электрофоретическим методом.

Электрофоретический анализ проводили в 10%-ном (масса/объём) полиакриламидном геле в присутствии ДСН в восстанавливающих условиях по Лэммли [16]. Белки окрашивали красителем кумасси R-250.

Наличие специфических антител в крови оценивали методом твёрдофазного ИФА. В лунки 96-луночного полистиролового планшета (“Costar”, США) вносили по 0,1 мл раствора IgA1 протеазы в 0,05 М Na-карбонатном буфере (pH 9,6), в концентрации 20 мкг/мл, и инкубировали в течение 16 ч при 4°C, лунки четырежды отмывали фосфатно-солевым буфером PBS, pH 7,2, содержащим 0,05% твин-20 (масса/объём) (PBST). Затем в лунки вносили по 0,1 мл образцов сывороток в двойных

разведениях, начиная с разведения 1:10. После инкубации планшета в течение 1 ч при 37°C растворы сывороток сливали, пробы четырежды отмывали PBST и вносил в лунки по 0,1 мл раствора конъюгата пероксидазы хрена и козьих антител к иммуноглобулинам IgA или IgG. Наличие IgA1 и IgG в сыворотках людей определяли с помощью пероксидазных конъюгатов козьих антител к иммуноглобулинам человека IgA и IgG в разведении 1 мг/мл. Пробы инкубировали в течение 1,5 ч при 37°C, отмывали, как описано выше, и вносили в лунки по 0,1 мл субстрата (0,05% орто-фенилендиамин, 0,05% пероксид водорода) в 0,05 М Na-цитратном буфере, pH 4,5. Реакцию останавливали добавлением 7% (масса/объем) H₂SO₄. Оптическую плотность при длине волны 492 нм измеряли на приборе Multiscan Plus MK11 ("Flow laboratories", Великобритания). За титр антител принимали значение соответствующего разведения сыворотки, при котором поглощение при 492 нм составляло более 0,1 ОЕ и превышало фоновый уровень в два раза.

Протеолитическую активность IgA1 протеазы изучали в опытах на самках мышей линии BALB/C массой 16-18 г. (Питомник "Пушино"). Животных иммунизировали внутривенно в ретроорбитальный синус дважды в дозе 20 мкг белка с интервалом 45 дней. Для заражения животных использовали 4-х часовую культуру менингококков серогрупп А (штамм А208), В (штамм Н44/76) или С (штамм 0638). Микробную культуру выращивали на плотной питательной среде Хоттингера при 37°C, в атмосфере 5-10% CO₂ и повышенной влажности (98%). После инкубации микробы смывали с поверхности питательной среды изотоническим раствором NaCl и готовили взвесь с концентрацией 1·10⁹ м.к./мл (микробные клетки/мл), что соответствует оптической плотности 0,23 при длине волны 610 нм на спектрофотометре ("Ultrospec III", Швеция), затем полученную взвесь микробов разводили раствором железного декстрана ("Sigma", США), pH 7,2, при температуре 37°C до концентрации 0,5·10⁶ м.к./мл из расчёта 1,6 мг/мл железа.

Мышей заражали взвесью микробов внутрибрюшинно в объёме 0,5 мл. Через 4 ч после заражения у каждой мыши при помощи капилляра забирали кровь из ретроорбитального синуса в объёме 10 мкл. Путём последовательных разведений

в круглодонных 96-луночных пластиковых планшетах полученную кровь разводили изотоническим раствором NaCl в 1125 раз и 50 мкл полученного раствора высевали в 12-ти луночные планшеты с твердой питательной средой Хоттингера. Планшеты с посевом микробов инкубировали при 37°C в атмосфере 5% CO₂ в течение 18 ч. После окончания инкубации проводили подсчёт числа колониеобразующих клеток (КОЕ) для каждого образца крови и рассчитывали среднее число КОЕ в группе.

Активность вводимых мышам препаратов оценивали по уровню бактериемии (числу КОЕ в крови) у иммунизированных животных и числу живых мышей через 5 дней после заражения по сравнению с этими показателями в контрольной группе (не иммунизированные мыши) [17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Оценка протеолитической активности и специфичности рекомбинантной IgA1 протеазы в активной и мутантной формах

Сравнительный анализ протеолитической активности и специфичности рекомбинантной IgA1 протеазы в активной и мутантной формах проводили с использованием методов ИФА и электрофореза (см. раздел Методика). ИФА-анализ показал (рис. 1) способность активной IgA1 протеазы (2) эффективно катализировать гидролиз иммуноглобулина А1 человека и отсутствие протеолитической активности у мутантного образца (1).

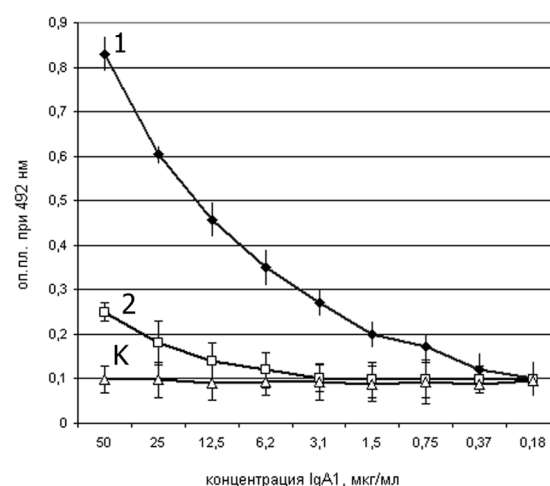


Рисунок 1. Определение протеолитической активности мутантной (1) и активной (2) IgA1 протеазы по уровню гидролиза иммуноглобулина А1, (см. раздел Методика). Контроль без иммуноглобулина (К).

ПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА IgA1 ПРОТЕАЗЫ МЕНИНГОКОККОВ

Таблица 1. Характеристика типовой специфичности IgA1 протеазы методом ИФА.

Тип Ig	IgA1 протеаза	50*** Исх.**	25	12	6	3	1,5	0,75	0,37	0,18
			1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
IgA1	мутант	0,823*	0,603	0,449	0,344	0,26	0,211	0,171	0,132	0,093
	активная	0,237	0,14	0,106	0,099	0,094	0,098	0,092	0,096	0,096
IgG	мутант	0,097	0,093	0,099	0,093	0,096	0,094	0,094	0,099	0,096
Без IgG	мутант	0,093	0,096	0,097	0,093	0,095	0,094	0,097	0,093	0,091

Примечание. * - оптическая плотность растворов IgA и IgG при разведении образцов при длине волны 492 нм; ** - разведение сывороток; *** - концентрация коммерческого иммуноглобулина в данном разведении, мкг/мл

Для определения типовой специфичности IgA1 протеазы использовали препараты IgA1 и IgG человека. В препарате IgA1 человека при титровании методом ИФА с мутантной IgA1 протеазой титр IgA составлял 1:128, что соответствует концентрации суммарного IgA 0,37 мкг/мл (табл. 1). При титровании того же препарата IgA с ферментативно активной IgA1 протеазой титр IgA составлял не более 1:2, что соответствует суммарной концентрации IgA 25 мкг/мл. Такой остаточный титр может быть обусловлен наличием в препарате IgA1 примеси иммуноглобулина субкласса A2 или фрагментов расщепленного IgA1,

содержащих участки связывания. В обоих случаях концентрация IgA1 определяется как разница между концентрацией иммуноглобулина при титровании с мутантной и ферментативно активной протеазами. В то же время концентрация IgG сохраняется при титровании как с мутантной, так и активной IgA1 протеазами.

Данные ИФА анализа были подтверждены электрофоретическим методом в ДСН-ПААГ.

Как видно из рисунка 2, рекомбинантная IgA1 протеаза в активной форме эффективно расщепляет IgA1 человека (дорожка 4), образуя продукт расщепления – фрагмент тяжелой цепи. В то же время, при обработке

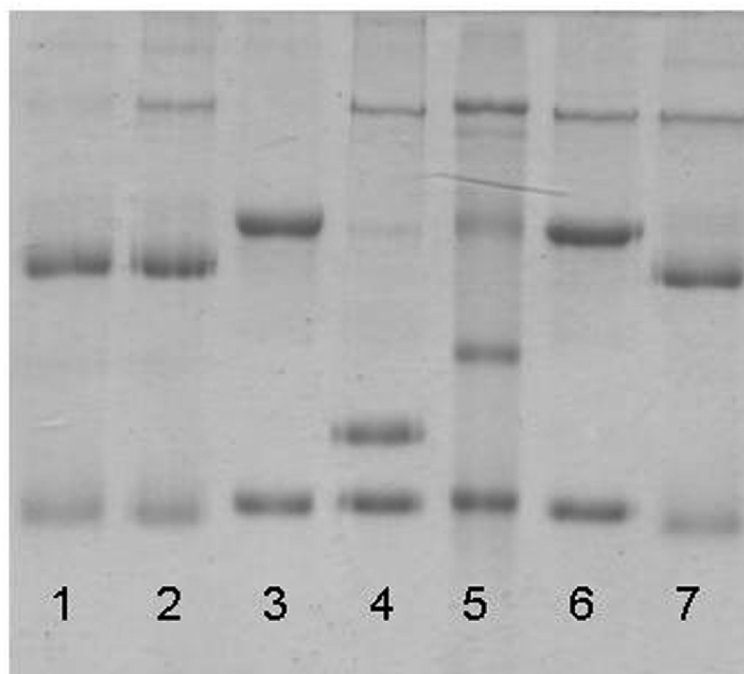


Рисунок 2. Электрофорез в ДСН-ПААГ в восстанавливающих условиях. Протеолитическая активность IgA1 протеазы в мутантной (1) и активной (2) формах в отношении IgA1, концентрация фермента 1 мкг/мл, соотношение фермент:субстрат 1:10. 1 - IgG; 2 - IgG в присутствии IgA1 протеазы в активной форме; 3 - контрольный препарат IgA1 без фермента; 4 - образец IgA1, обработанный IgA1 протеазой в активной форме, 5 - белки-маркеры молекулярной массы (116; 97,4; 66,2; 37,4; 28,5 кДа); 6 - образец IgA1, обработанный IgA1 протеазой в мутантной форме, 7 - IgG в присутствии IgA1 протеазы в мутантной форме.

IgA1 мутантным ферментом (дорожка 6) гидролиз не наблюдается. Из приведенных электрофоретических данных также очевидна устойчивость IgG человека к действию IgA1 протеазы, как в активной, так и в мутантной форме (дорожки 2 и 7).

Таким образом, данные ИФА и электрофореза свидетельствуют о типовой специфичности полученного нами препарата IgA1 протеазы.

Видовую специфичность полученных препаратов IgA1 протеазы оценивали методом ИФА по уровню IgA1 в сыворотках мышей и человека (см. раздел Методика). Титр антител к IgA1 протеазе в крови животных, иммунизированных как мутантным, так и активным препаратом, составлял 1:1280 (табл. 2). В то же время титр IgA в сыворотке человека в присутствии активного фермента снижался до 1:20 по сравнению с уровнем IgA при титровании с мутантным препаратом (титр 1:640), что свидетельствует о видовой специфичности активной IgA1 протеазы.

Таблица 2. Оценка видовой специфичности образцов IgA1 протеазы.

Образец IgA1 протеазы	Титр IgA антител	
	у мышей*	у человека**
мутантная	1:1280	1:640
активная	1:1280	1:20

Примечание. * - в сыворотке мышей, иммунизированных активной IgA1 протеазой; ** - в IgA1 человека, выделенном из препарата КИП.

Уровень IgA1 в сыворотках крови здоровых людей и больных менингококковым менингитом

Разработка вакцины против менингококковой инфекции на основе IgA1 протеазы требует проведения исследований по влиянию этой инфекции на изменение уровня IgA1 у людей, перенесших эту инфекцию. В сыворотках крови восьми человек с бактериологически подтвержденным диагнозом менингококкового менингита концентрацию IgA1 оценивали через 2-3 недели после поступления в больницу. Контролем служила группа из 8 здоровых людей (добровольцев). IgA1 в испытуемых сыворотках определяли методом ИФА с мутантной и активной IgA1 протеазой. Результаты исследования показали, что в сыворотке здоровых людей средний титр суммарного IgA (IgA1+IgA2) при использовании мутантной IgA1 протеазы составлял 1:160 (рис. 3). При титровании тех же сывороток с ферментативно активной протеазой, концентрация IgA в сыворотке менялась незначительно (1:80). Титрование сывороток больных с мутантной IgA1 протеазой свидетельствует о существенном нарастании IgA1 (1:1280). При этом уровень IgA при титровании с активной IgA1 протеазой существенно не отличался от этого показателя у здоровых людей.

Если предположить, что уровень IgA при титровании сывороток с активной протеазой обусловлен IgA2, можно сделать заключение о нарастании у больных

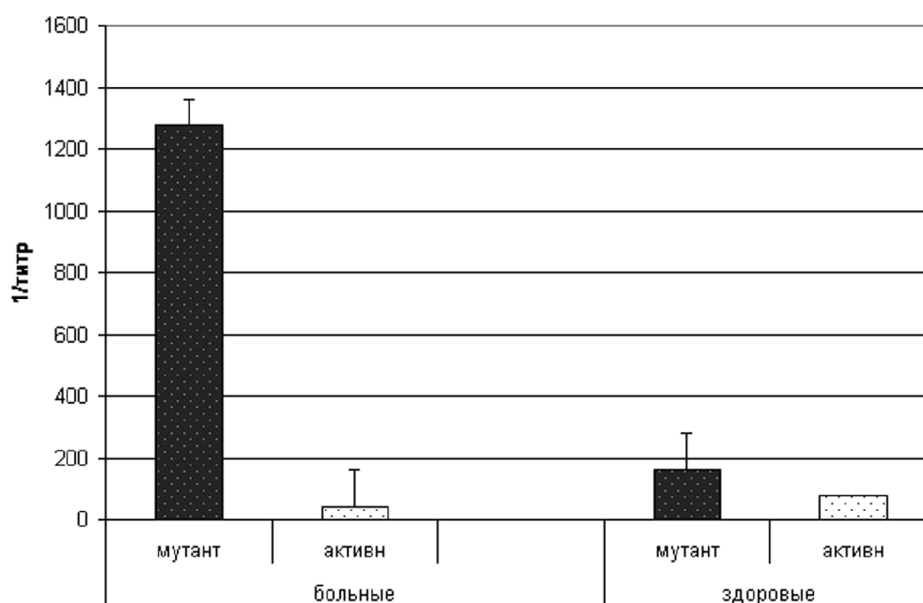


Рисунок 3. Уровень IgA в сыворотках здоровых доноров и больных менингококковым менингитом.

ПРОТЕКТИВНЫЕ СВОЙСТВА IgA1 ПРОТЕАЗЫ МЕНИНГОКОККОВ

только IgA1 (1:1280), но не IgA2 (1:40). Существенная разница в результатах титрования IgA в сыворотках больных и здоровых людей даёт основание сделать заключение об активном участии IgA1 в формировании иммунитета при менингококковой инфекции.

Приведённые результаты свидетельствуют о возможности использовать этот показатель в диагностике инфекций, связанных с уровнем IgA1 у больных.

Сравнительная оценка протективной активности препаратов мутантной и активной IgA1 протеазы

При заражении мышей живой вирулентной культурой менингококка серогруппы В уровень бактериемии у животных, иммунизированных IgA1 протеазой, был существенно снижен (27% для активного препарата и 10% – для мутантного). Данные по бактериемии коррелировали с результатами гибели животных. Число мышей, выживших после заражения, составляло 85 и 81% соответственно по сравнению с контрольными животными (7%) (рис. 4).



Рисунок 4. Протективная активность мутантной и активной IgA1 протеазы при заражении мышей менингококком серогруппы В.

Результаты опытов на животных показали, что уровни протективной активности мутантного и активного препаратов IgA1 протеазы значительно не отличаются друг от друга, в одинаковой степени защищая мышей от менингококковой инфекции серогруппы В.

Определение поливалентной протективной активности IgA1 протеазы

Для определения протективной активности IgA1 протеазы в отношении различных серогрупп менингококка были составлены

три группы мышей, иммунизированных препаратом мутантной IgA1 протеазы, которых заражали живой вирулентной культурой менингококков серогруппы А, серогруппы В и серогруппы С.

Уровень бактериемии (%) у иммунизированных мышей после заражения менингококком серогрупп А, В и С по сравнению с контрольными составлял соответственно – 32, 41 и 47 КОЕ, в пересчёте на 100 КОЕ в контроле ($p < 0,05$), а число выживших мышей после заражения составляло соответственно 78, 86 и 64%, по сравнению с 7% мышей, выживших в контроле (рис. 5).

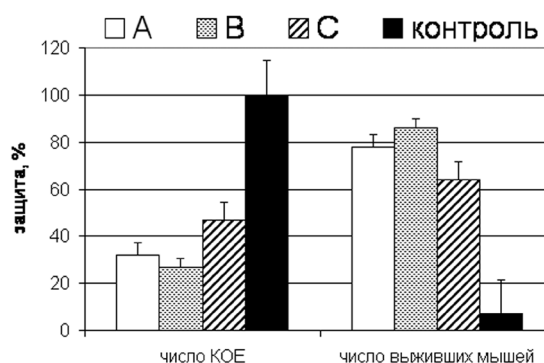


Рисунок 5. Протективная активность мутантной IgA1 протеазы при заражении мышей менингококками серогрупп А, В и С.

Таким образом, приведенные данные указывают на достаточно высокую протективную активность препарата мутантной IgA1 протеазы, которая способна защищать от менингококковой инфекции трёх основных эпидемически опасных для людей серогрупп менингококка А, В и С в эксперименте на животных. Ранее было показано [18], что результаты, полученные на разработанной авторами экспериментальной модели по оценке иммуногенности менингококковых вакцин на мышах, полностью коррелируют с результатами испытаний этих препаратов на людях. Всё вышесказанное даёт возможность предположить, что полученный вариант мутантной IgA1 протеазы является эффективным препаратом и может рассматриваться в качестве основы при конструировании поливалентной вакцины против менингококковой инфекции различной этиологии, а возможно и других инфекций, патогенность которых обусловлена этим ферментом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование ферментативных и протективных свойств рекомбинантной IgA1 протеазы в активной и мутантной формах. Показано, что активная форма IgA1 протеазы характеризуется видовой и типовой специфичностью в отношении иммуноглобулинов, а мутантная форма фермента не обладает ферментативной активностью. Кроме того, показано, что активная и мутантная формы фермента обладают протективными свойствами в отношении менингококковой инфекции гетерологичных серогрупп А, В и С, защищая мышей от летального заражения живой вирулентной культурой менингококков этих серогрупп. Полученные результаты позволяют рассматривать IgA1 протеазу в качестве перспективного препарата при создании поливалентной вакцины для защиты человека от менингококковой инфекции различной этиологии.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ 11-04-00895-а и Программы Президиума РАН "Фундаментальные науки – медицине" на 2012 г. "Превентивная терапия нейроинфекций: создание противоменингококковой поливакцины принципиально нового типа на основе IgA1 протеазы – основного фактора вирулентности патогенных микроорганизмов".

ЛИТЕРАТУРА

1. Платонов А.Е., Харит С.М., Платонова О.В. (2009) Эпидемиология и Вакцинопрофилактика, **48**(5), 32-45.
2. Frasch C.E. (1995) Meningococcal vaccines, **7**, 245-283.
3. Donnelly J.J., Deck R.R., Liu M.A. (1990) J. Immunol., **145**, 3071-3079.
4. Sierra G.V.G., Campa H.C., Varacel N.M., Garcia I.L., Izquierdo P.L., Sotolongo P.F., Casanueva G.V., Rico C.O., Rodriguez C.R., Terry M.H. (1991) NIPH Ann., **14**, 195-210.
5. Mulks M.H., Plaut A.G. (1978) N. Engl. J. Med., **299**, 973-976.
6. Plaut A.G. (1983) Annu. Rev. Microbiol., **37**, 603-622.
7. McNabb P.C., Tomasi T.B. (1981) Annu. Rev. Microbiol., **35**, 477-496.
8. Mistry D., Stockley R.A. (2006) Int. J. Biochem. Cell. Biol., **38**, 1244-1248.
9. Казеева Т.Н., Шевелёва А.Б. (2007) Биохимия, **72**, 603-614.
10. Ягудаева Е.Ю., Жигис Л.С., Зуева В.С., Мельников Э.Э., Зубов В.П., Козлов Л.В., Бичучер А.М., Котельникова О.В., Аллилуев А.П., Руми Л.Д. (2010) Биоорганическая химия, **36**, 96-105.
11. Серова О.В., Мельников Э.Э., Зинченко А.А., Котельникова О.В., Аллилуев А.П., Бичучер А.М., Гордеева Е.А., Жигис Л.С., Зуева В.С., Козлов Л.В., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А., Ягудаева Е.Ю., Руми Л.Д. (2012) Биофармацевтический журнал, **3**(6), 42-47.
12. Ягудаева Е.Ю., Аллилуев А.П., Гордеева Е.А., Жигис Л.С., Зинченко А.А., Зуева В.С., Козлов Л.В., Котельникова О.В., Мелихова Т.Д., Нокель Е.А., Разгуляева О.А., Серова О.В., Ситникова Е.А., Руми Л.Д. (2012) Материалы XX международной конференции Новые информационные технологии в медицине, фармакологии, биологии, и экологии, Ялта-Гурзуф, с. 101-102.
13. Gregory J.L., Rundegren J., Arnold R.R. (1987) J. Immunol. Meth., **99**, 101-106.
14. Козлов Л.В., Романов С.В., Дьяков В.Л., Суровцев В.И., Теймуразов М.Г. Патент РФ "Способ и набор для иммуноферментного определения активности и ингибирования IgA1-протеазы" №2310853. Бюл. № 32. 20.11.2007.
15. Ягудаева Е.Ю., Жигис Л.С., Зуева В.С., Мельников Э.Э., Зубов В.П., Козлов Л.В., Бичучер А.М., Котельникова О.В., Аллилуев А.П., Руми Л.Д. (2010) Биоорганическая химия, **36**, 96-105.
16. Laemmli U.K. (1970) Nature, **227**, 680-685.
17. Котельникова О.В., Чибискова О.В., Несмеянов В.А., Аллилуев А.П., Вольпина О.М., Короев Д.О., Жмак М.Н., Титова М.А., Иванов В.Т. (2005) Бюлл. экспер. биол. мед., №5, 553-556.
18. Аллилуев А.П., Котельникова О.В., Кувакина В.И., Бобылева Г.В., Гофман И.Л., Казьмина Ю.Г. (1995) Ж. Микробиол., Эпидемиол., Иммунол., **4**, 67-71.

Поступила: 03. 10. 2012.

PROTECTIVE PROPERTIES OF RECOMBINANT IGA1 PROTEASE
FROM MENINGOCOCCUS

*O.V. Kotel'nikova¹, A.P. Alliluev², E.Yu. Drozhzhina¹, I.S. Koroleva³, E.A. Sitnikova¹,
A.A. Zinchenko¹, E.A. Gordeeva¹, T.D. Melikhova¹, E.A. Nokel¹, L.S. Zhigis¹, V.S. Zueva¹,
O.A. Razgulyaeva¹, O.V. Serova¹, E.Yu. Yagudaeva¹, L.D. Rumsh¹*

¹Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, Moscow, 117997 Russia; tel.: (495)335-33-22;
e-mail: ovkot.2003@mail.ru

²Medical Faculty, Russian University of Peoples' Friendship, Moscow, Russia

³Municipal infectious diseases hospital №2, Moscow, Russia

The study of enzymatic and protective properties of recombinant IgA1 protease in active and mutant form showed that active form of IgA1 protease exhibited species – and type-specificity for mouse and human immunoglobulins. Mutant form, which did not exhibit enzymatic activity, had protective properties against meningococcal infection, induced by meningococcus serogroup A, B and C protecting the mice from lethal infection by living virulent culture of heterologous serogroups of meningococcus. Obtained results make it possible to consider IgA1 protease as a perspective preparation at the stages of development of polyvalent vaccine for protection the people from meningococcal infection of various etiology.

Key words: IgA1 protease, meningococcal vaccine, enzymatic activity, immunogenicity, protective properties.