

Протеины А, G, L

Оглавление

Функции <i>in vivo</i>	2
Строение и структура	3
Специфичность к иммуноглобулинам	5
Связывание Fc-фрагментов	5
Связывание Fab-фрагментов.....	6
Связывание лёгких цепей.....	8
Сродство к различным классам Ig человека и животных.....	8
Рекомбинантные аналоги Ig-связывающих белков	9
Рекомбинантный протеин А.....	10
Рекомбинантный протеин G	10
Химерные белки А/G	10
Применение протеинов А и G в медицине и диагностике.....	10
Заключение.....	11
Список цитированной литературы	12

Функции *in vivo*

Протеины А, G, L, а также ряд других белков, выполняющих схожие функции, встроены в клеточную стенку некоторых грам-положительных бактерий. Организмы, экспрессирующие протеины А, G и L, приведены в табл. 1.

Табл. 1. Бактерии, экспрессирующие протеины А, G и L

белок	организм	таксономия
Pr. A	<i>Staphylococcus aureus</i>	Bacteria › Firmicutes › Bacillales
Pr. G	<i>Streptococcus</i> sp. групп G и C	Bacteria › Firmicutes › Lactobacillales › Streptococcaceae
Pr. L	<i>Peptostreptococcus magnus</i>	Bacteria › Firmicutes › Clostridia › Clostridiales › Clostridiales Family XI. Incertae Sedis › Finegoldia

S.aureus и *P.magnus* входят в состав нормальной микрофлоры кожи и слизистых человека и животных, однако при проникновении через эпителиальный барьер могут вызывать оппортунистические инфекции различной тяжести (Kastern et al., 1992, Merino et al., 2009).

Стрептококки групп G и C (группы дифференцируются по антигенам полисахаридной природы) не различаются по вызываемым ими симптомам. Самое распространённое осложнение, вызываемое стрептококковой инфекцией – фарингит, но возможны и более тяжёлые, в т.ч. септицемия (Sjöbring et al., 1991).

Протеины А, G, L и другие подобные им белки клеточной стенки обладают способностью связывать некоторые белки плазмы организма-хозяина, главным образом иммуноглобулины и альбумин. В результате бактериальная клеточная стенка покрывается плёнкой из белков хозяина, что предположительно служит для снижения иммунного ответа на бактериальную инфекцию (Gronenborn et al., 1991): иммуноглобулины, будучи связанными с протеином А или другими поверхностными бактериальными белками этого типа, не способны связывать Fc-рецепторы нейтрофилов, что препятствует опсонизации (Merino et al., 2009). Как правило, подобные плёнки образуются с участием внеклеточных бактериальных полисахаридов, однако протеин А опосредует альтернативный механизм образования плёнки на поверхности *S.aureus* (Merino et al., 2009).

Протеину А приписывается множество функций, в т.ч. активация системы комплемента, участие в реакциях гиперчувствительности, клеточно-опосредованной цитотоксичности, в стимуляции деления лимфоцитов (Nilsson et al., 1987). Показано также, что IgG-связывающие участки протеина А связывают фактор Виллебранда (Hartleib et al., 2000, O'Seaghda et al., 2006), а также способны связывать фактор некроза опухолей TNFR1, индуцируя воспалительный ответ в эпителиальных клетках дыхательных путей (Gomez et al., 2004, Gomez et al., 2006). Таким образом, протеин А можно считать фактором вирулентности.

Показана корреляция между вирулентностью *P.magnus* и экспрессией протеина L на поверхности клетки (Kastern et al., 1990). Кроме того, известно, что протеин L, связываясь с лёгкими цепями IgE на поверхности базофилов, а также тучных клеток лёгочной паренхимы и кожи, способен активировать секрецию как преобразованных (гистамин), так и синтезированных *de novo* (лейкотриен C₄ и/или PGD₂) провоспалительных медиаторов. Протеин А, связываясь с Fab-участками IgE, способен активировать базофилы, но не тучные клетки, а протеин G не активирует ни тот, ни другой тип клеток (Patella et al., 1990).

Протеин G, по данным Sjöbring et al., 1991, не является фактором вирулентности, но, связывая белки плазмы (в т.ч. ингибитор протеаз α -макроглобулин) участвует в неких жизненно важных процессах.

Строение и структура

Протеины А, G и L не гомологичны друг другу (Guss et al., 1986, Kastern et al., 1990), однако для них характерны общие особенности строения: заякоренный в мембране и клеточной стенке С-конец и основная часть, построенная из повторяющихся модулей, отвечающих за связывание иммуноглобулинов и в некоторых случаях других белков плазмы (см. рис. 1а-в и табл. 2).

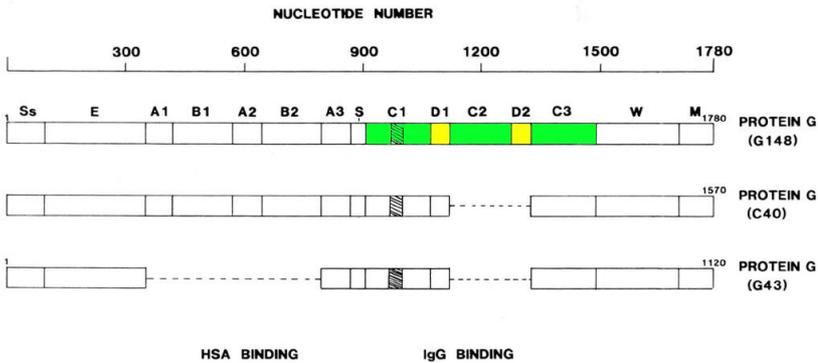


Рис. 1а. Схема строения трёх вариантов протеина G, изолированных из трёх разных штаммов стрептококков.

Ss – сигнальная последовательность

E – функция не выяснена

A1-A3 – альбумин-связывающие домены

C1-C3 – IgG-связывающие домены

S – спейсерный участок

W – участок заякоривания в клеточной стенке

M – участок заякоривания в плазмалемме

(Sjöbring et al., 1991).

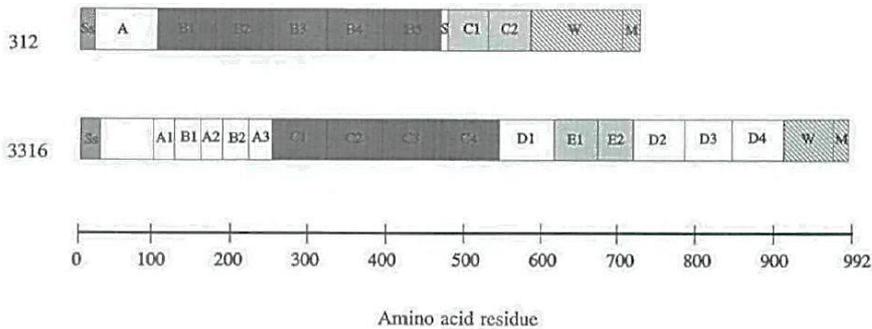


Рис. 1б. Схема строения двух вариантов протеина L, изолированных из двух разных штаммов *P. magnus*.

Ss – сигнальная последовательность

A у PPL₃₁₂ и АВ у PPL₃₃₁₆ – функция неизвестна

Участки, выделенные тёмным - IgG-связывающие домены

Участки, выделенные серым – функция не выяснена

W, M – см. подпись к рис. 1а

(Murphy et al., 1994).

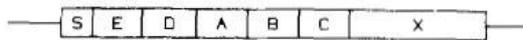


Рис. 1в. Схема строения протеина А

S – сигнальная последовательность

E, D, A, B, C – IgG-связывающие домены

X – С-концевая часть молекулы, не обладающая сродством к Ig и содержащая домены W и M

(см. подпись к рис. 1а)

(Uhlen et al., 1984).

Табл. 2. Некоторые характеристики протеинов А, G, L

белок	#UniProt	Mw, kDa	Ig-связывающие участки	
			кол-во	длина, aa
Pr. A	P02976	~42	5	~60
Pr. G	P19909	~65	2 или 3	55
Pr. L	Q51918	~106	4 или 5	72-75

На С-конце полипептидной цепи находится гидрофобный участок (M), заякоривающий белки в клеточной мембране. У протеинов А и G первичные последовательности домена М практически одинаковы (Guss et al., 1986), однако это – единственный участок гомологии между

этим белками (Olsson et al., 1987). Степень гомологии домена М протеинов А и G с соответствующим участком протеина L значительно ниже (Murphy et al., 1994).

Перед доменом М у всех трёх белков располагается домен W – гидрофильный участок, закоряивающий белок в клеточной стенке. Он состоит из участка, богатого остатками пролина, и многократно повторённой гидрофильной последовательности, и, по-видимому, не содержит ни α -спиралей, ни β -складок. Подобные структуры характерны для многих других поверхностных белков грам-положительных бактерий (Guss et al., 1986, Olsson et al., 1987, Murphy et al., 1994).

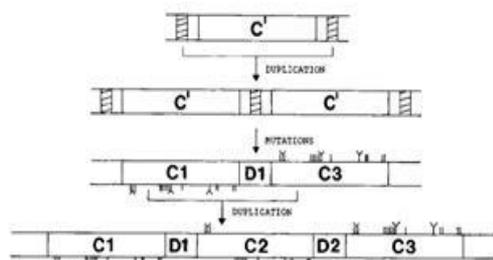


Рис. 2. Схема возможной эволюции участка гена протеина G, кодирующего IgG-связывающий домен (Olsson et al., 1987).

К N-концу от домена W располагаются домены, связывающие белки плазмы организма-хозяина – иммуноглобулины и альбумин. Иммуноглобулины и альбумин связываются с разными доменами. Как IgG-связывающих, так и альбумин-связывающих доменов у каждого из трёх описываемых белков несколько, и между такими доменами в составе одной молекулы наблюдается высокий уровень гомологии (Guss et al., 1986, Murphy et al., 1994, Sjobahl, 1977). По-видимому, такая структура возникла в результате дупликации участков генов этих белков (см. рис. 2 и Olsson et al., 1987).

Альбумин-связывающие домены есть у протеинов G и L. Они располагаются в N-концевой части полипептидной цепи и обозначаются соответственно A1-A3 и D1-D4. Между этими доменами протеинов G и L обнаружено 67% гомологии (Murphy et al., 1994).

Существуют формы протеина G (G43, см. рис. 1а и Sjöbring et al., 1991) и протеина L (PPL₃₁₂, см. рис. 1б и Murphy et al, 1994), у которых альбумин-связывающие участки отсутствуют. Кроме того, в случае протеина G альбумин-связывающая часть полипептидной цепи может отщепляться протеазами (Murphy et al., 1994).

Все три описываемых белка обладают способностью связывать иммуноглобулины за счёт специализированных IgG-связывающих доменов. У протеина G таких доменов два либо три (C1-C3), и они разделены спейсерными участками D1 и D2 (см. рис. 1а). У протеина L – четыре или пять IgG-связывающих доменов, обозначаемых по-разному в зависимости от штамма, у протеина А – пять (Е, D, А, В и С) (см. рис. 1в). Интересно, что для всех трёх белков один из IgG-связывающих доменов несколько отличается от остальных по своей первичной последовательности (домен Е в случае протеина А, домен С1 в случае PPL₃₃₁₆ и В5 у PPL₃₁₂, домен С3 в случае протеина G) (Guss et al, 1986, Nilsson et al., 1987, Murphy et al, 1994).

По данным Sjöbring et al., 1991, у белка G148 (см. рис. 1а), содержащего три IgG-связывающих домена, сродство к IgG на порядок выше, чем у других вариантов протеина G, содержащих только два С-домена. Подобные данные были получены и ранее (Eliasson et al., 1989).

IgG-связывающие домены протеинов А и G связываются с одним и тем же участком Fc-фрагмента молекулы иммуноглобулина (Sjöbring et al., 1991, Huse et al., 2002), однако обладают абсолютно разной третичной структурой. В случае протеина А это «пучок» из трёх α -спиралей (см. рис. 3а), в случае протеина G – две антипараллельные β -шпильки, соединённые α -спиралью (см. рис. 3б). Это – необычная структура, не встречавшаяся исследователям ранее и отличающаяся очень высокой термостабильностью (Gronenborn et al., 1991). Очень похожая структура IgG-связывающего домена двумя годами позже была обнаружена у протеина L (Wikstrom et al., 1993) рис. 3в), хотя этот белок и связывает совсем другой участок иммуноглобулина (Murphy et al., 1994).

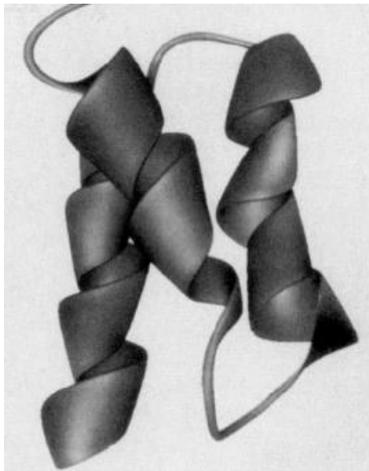


Рис. 3а. Схема третичной структуры IgG-связывающего домена протеина А (Gouda et al., 1992)

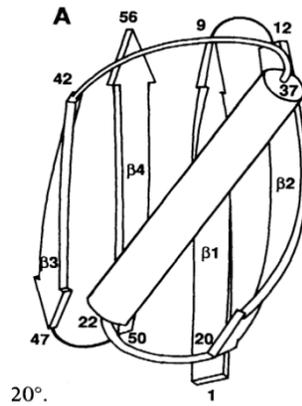


Рис. 3б. Схема третичной структуры IgG-связывающего домена протеина G (Gronenborn et al., 1991).

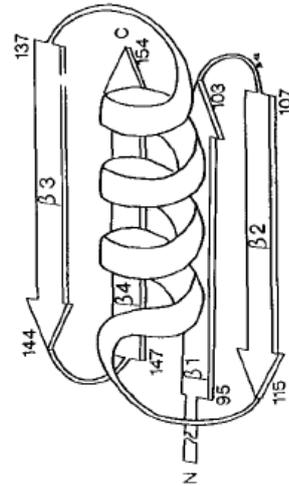


Рис. 3в. Схема третичной структуры IgG-связывающего домена протеина L (Wikström et al., 1993).

Интересно, что IgG-связывающие домены протеина А очень похожи по своей третичной структуре на альбумин-связывающие домены протеина G (Kraulis et al., 1996), хотя они не гомологичны друг другу и выполняют разные функции.

Специфичность к иммуноглобулинам

Связывание Fc-фрагментов

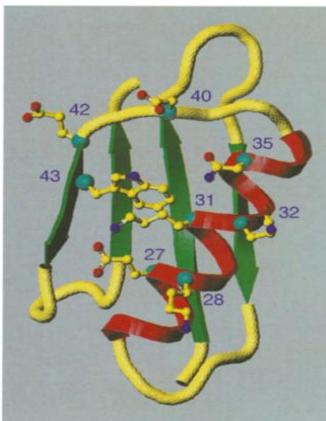


Рис. 4. IgG-связывающий домен протеина G: остатки, участвующие в связывании Fc. (Sauer-Eriksson et al., 1995)

Несмотря на разницу в первичной, вторичной и третичной структурах, IgG-связывающие домены протеинов А и G связываются с Fc-фрагментами иммуноглобулинов человека и животных в одном и том же месте – области контакта между доменами Сн2 и Сн3 (Sauer-Eriksson et al., 1995). В модели, предложенной Sauer-Eriksson et al., ключевые аминокислотные остатки в Fc-фрагменте, расположенные преимущественно в области петель, взаимодействуют с IgG-связывающими доменами протеинов А и G (см. рис. 5). В IgG-связывающем домене протеина G ключевые остатки - Glu27, Lys28, Lys31, Gln32, Asn35, Asp40, Glu42 и Trp43 (см. рис. 4). При этом связи в комплексе **PrG-Fc** преимущественно полярные, в то время как в комплексе **PrA-Fc** преобладают гидрофобные контакты. Однако некоторые из ключевых аминокислотных остатков в Сн2- и Сн3-доменах участвуют во взаимодействии как с протеином А, так и с протеином G (на рис. 5 обозначены жёлтым). Именно с этим связан конкурентный характер связывания иммуноглобулинов протеинами А и G. На рис. 6 представлены модели связывания протеинов А и G с Fc-фрагментом IgG1 человека.

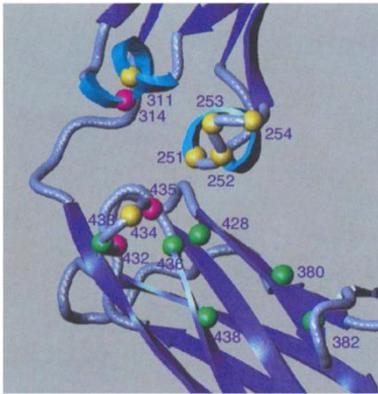


Рис. 5. Ключевые остатки C_H2- и C_H3-доменов Fc-фрагмента IgG, взаимодействующие только с протеином А (розовый), только с протеином G (зелёный) или с обоими белками (жёлтый). (Sauer-Eriksson et al., 1995).

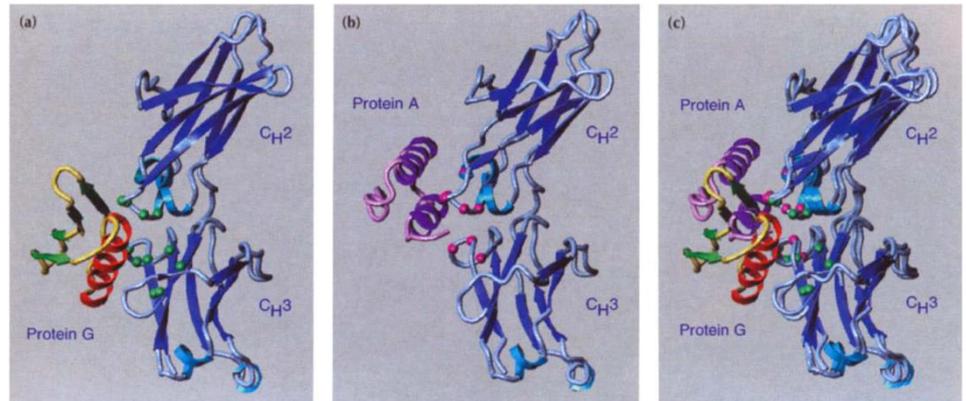


Рис. 6. Сравнение комплексов **PrG-Fc** и **PrA-Fc**. Цветовые обозначения как на рис. 5. а) взаимодействие с протеином G. б) взаимодействие с протеином А. в) наложение моделей а) и б). (Sauer-Eriksson et al., 1995).

Разницей в характере связывания протеинов А и G с Fc-фрагментами антител объясняются также различия в характере рН-зависимости реакций связывания этих двух белков с иммуноглобулинами: для протеина G рН-оптимум лежит в области рН 4-5, в то время как оптимальный рН для связывания Ig с протеином А равен 8 (Akerström and Björck, 1986).

В тяжёлых цепях иммуноглобулинов класса IgG3 человека ключевой остаток His-435 заменён на Arg. В комплексе IgG с протеином А His-435 расположен очень близко к ряду гидрофобных аминокислотных остатков, в то время как в комплексе **PrG-Fc** His-435 не участвует во взаимодействиях с PrG. Таким образом, боковая цепь аргинина предотвращает образование комплекса Fc с PrA, но не с PrG (Sauer-Eriksson et al., 1995). Этим объясняется тот факт, что протеин А не способен связывать IgG3, в то время как протеин G с одинаковым сродством связывает все четыре класса IgG человека. Низкое сродство обоих белков к иммуноглобулинам других классов и других организмов также можно объяснить аминокислотными заменами в соответствующих участках тяжёлых цепей.

Связывание Fab-фрагментов

Протеины А и G способны также связывать Fab-фрагменты, хотя и с меньшим сродством (Inghanas et al., 1980, Inghanas, 1981, Björck and Kronvall, 1984, Jansson et al., 1998). Площади контакта в комплексах **Fc-PrA** и **Fab-PrA** одного порядка (1320 Å² и 1220 Å², соответственно), однако в комплексе **Fc-PrA** связи преимущественно гидрофобные, в то время как в образовании контакта между протеином А и Fab-фрагментом молекулы иммуноглобулина участвуют в основном полярные связи (Deisenhofer, 1981, Graille et al., 2000). При этом показано, что теоретически возможно одновременное связывание и Fab-, и Fc-фрагмента (за связывание разных фрагментов отвечают разные аминокислотные остатки) (см. рис. 8 и 9). (Graille et al., 2000). На рис. 7 видно, что связывание протеина А не затрагивает гипервариабельные цепи. Это подтверждает экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что связывание протеином А Fab-фрагмента антитела не мешает связыванию антигена (Young et al., 1984).

Сродством к Fab-фрагментам, по-видимому, объясняется также способность протеина А стимулировать базофилы, связываясь с IgE на их поверхности (см. выше).

IgG-связывающие домены протеина G, связываясь с Fab-фрагментами, вовсе не затрагивают вариабельных доменов (см. рис. 10). Связывание происходит за счёт взаимодействия β2-складки IgG-связывающего домена (см. рис. 36) и последней β-складки C_H1-домена Fab-фрагмента (Derrick and Wigley, 1992, Sauer-Eriksson et al., 1995).

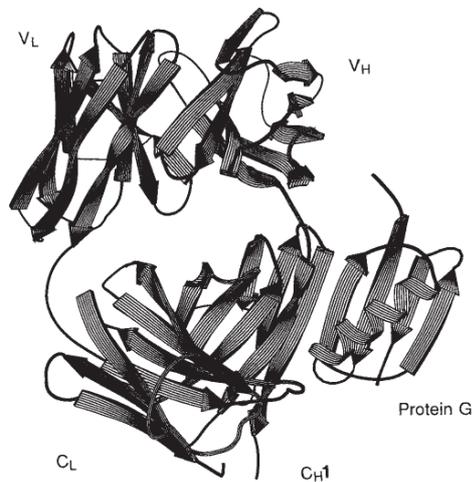


Рис. 10. Комплекс IgG-связывающего домена D протеина G с Fab-фрагментом антитела. (Derrick & Wigley, 1992).

Связывание лёгких цепей

Иммуноглобулин-связывающие домены протеина L, несмотря на то, что они, как уже упоминалось выше, по третичной структуре очень похожи на соответствующие домены протеина G (сравн. рис. 3б и 3в), связывают *лёгкие цепи* иммуноглобулинов, причём преимущественно к-цепи (около 65% всех иммуноглобулинов несут к-цепи). Соответственно, т.к. лёгкие цепи являются общими для всех классов иммуноглобулинов, протеин L способен связывать не только IgG, но и IgA, -M и -E (Bjorck, 1988, Kastern et al., 1990, Patella et al., 1990). Этим объясняется, в т.ч., описанная выше способность протеина L стимулировать базофилы и тучные клетки: Ig-связывающие домены PrL связываются с каппа-цепями IgE на поверхности этих клеток. Важно отметить, что протеин L, связываясь с лёгкими цепями, не препятствует связыванию антигена (Nilson et al., 1993).

Сродство к различным классам Ig человека и животных

Различия в характере связи протеинов A, G и L с иммуноглобулинами отражаются и в том, что эти белки различаются по набору связываемых ими антител. Так, протеины A и G связывают практически только иммуноглобулины класса G. Протеин A не связывает IgG3 человека и IgG1 мыши, а также большинство иммуноглобулинов крысы, т.е. не всегда удобен в лабораторной практике. Протеин G, напротив, с одинаковым сродством связывается со всеми классами IgG человека и мыши, однако обладает более низким, чем протеин A, сродством к иммуноглобулинам некоторых животных. В табл. 3 представлены сравнительные значения сродства протеинов A и G, а также химерных протеинов A/G и протеина L, к иммуноглобулинам G различных животных, а также другим классам Ig человека. Видно, что наборы Ig, которые способны связывать протеины A и G, дополняют друг друга. Так, например, протеин G лучше, чем протеин A, связывает иммуноглобулины G крысы, лошади, коровы, овцы. Однако протеин G, в отличие от протеина A, обладает низким сродством к IgG собаки, кошки, морской свинки, свиньи. По данным некоторых исследователей (Guss et al., 1986) протеин G слабее, чем протеин A, связывает IgG человека. Химерные протеины обладают комбинированными свойствами, т.е. объединяют спектры связывания исходных белков.

Табл. 3. Средство протеинов А, G, L к иммуноглобулинам человека и животных (по таблице, предоставляемой компанией Thermo Scientific (www.thermo.com/pierce), Huse et al., 2002).

ВИД ЖИВОТНОГО	Антитела	Protein A	Protein G	Protein A/G	Protein L	
человек	IgG	+++	+++	+++	+++	
мышь		+++	+++	+++	+++	
кролик		+++	+++	+++	+	
коза		+	+++	+++	-	
крыса		+	++	++	+++	
овца		+	+++	+++	-	
корова		+	+++	+++	-	
морская свинка		+++	+	+++	?	
хомяк		++	?	?	?	
свинья		+++	+	+++	+++	
лошадь		+	+++	+++	?	
осёл		++	+++	+++	?	
собака		+++	+	+++	?	
кошка		+++	+	+++	?	
обезьяна (резус)		+++	+++	+++	?	
курица		IgY	-	-	-	-
			-	-	-	-
человек	IgM	+	-	+	+++	
	IgA	+	-	+	+++	
	IgE	-	-	++	+++	
	IgD	-	-	+	-	
	IgG1	+++	+++	+++	+++	
	IgG2	+++	+++	+++	+++	
	IgG3	+	+++	+++	+++	
	IgG4	+++	+++	+++	+++	
мышь	IgG1	+	++	++	+++	
	IgG2a	+++	+++	+++	+++	
	IgG2b	+++	+++	+++	+++	
	IgG3	+++	+++	+++	+++	

Рекомбинантные аналоги Ig-связывающих белков

Использование иммуноглобулин-связывающих белков, очищенных из культур соответствующих бактерий, сопряжено с рядом проблем. Так, наращивание стрептококковых культур достаточно затруднительно; кроме того, такие культуры патогенны. Так как Ig-связывающие белки связаны с плазмалеммой и клеточной стенкой, необходимо обрабатывать клетки протеазами (трипсин, пепсин, муранолизин, папаин), кислотой или щёлочью. В результате получаемый материал весьма гетерогенен (Guss et al., 1986, Akerstrom et al., 1987, Eliasson et al., 1989, Sjobring et al., 1991). Кроме того, протеин G обладает также альбумин-связывающей активностью, что может быть нежелательно при аффинной очистке IgG из плазмы крови. Ещё одна проблема – элюция иммуноглобулинов с аффинных носителей на основе протеинов А и G очень низкими (около 2) значениями рН, что может привести к изменению их конформации. Кроме того, при аффинной очистке иммуноглобулинов с использованием Ig-связывающих протеинов дикого типа, полученных из патогенных бактериальных культур,

возможна контаминация, что недопустимо, если иммуноглобулины используются в терапевтических целях (Huse et al., 2002).

На данный момент используют в основном рекомбинантные аналоги протеинов А и G, получаемые в *E.coli*. Такие белки, как правило, представляют собой Ig-связывающий участок одного или обоих (химерные белки) протеинов, в ряде случаев дополнительно модифицированный для придания устойчивости к определённым реагентам или для изменения рН элюции (см. ниже).

Рекомбинантный протеин А

В настоящее время доступны как рекомбинантные аналоги протеина А (судя по молекулярной массе (42кДа) – всё, кроме участка X), так и миметики. Так называемый протеин Z – миметик протеина А, сконструированный на базе иммуноглобулин-связывающего домена В (см. рис. 1в). Протеин Z не содержит остатков метионина (как и домен В, что и явилось одной из причин выбора именно этого домена) и поэтому устойчив к обработке бромцианом. Кроме того, дипептидные последовательности Asp-Gly заменены на Asp-Ala, что лишает белок чувствительности к гидроксиламину. Как правило, используют рекомбинантный белок, содержащий два таких домена (PrZZ) (Nilsson et al., 1987). Показано, что использование протеина Z позволяет увеличить рН элюции иммуноглобулинов примерно до 4 (Gulich et al., 2000).

Рекомбинантный протеин G

Рекомбинантный протеин G, как правило, представляет собой Ig-связывающий участок протеина G дикого типа (фрагмент C1-D1-C2-D2-C3), т.е. не обладает альбумин-связывающей активностью и лишён доменов W и M. Подобный белок был получен более 20 лет назад (Goward et al., 1990); в настоящий момент доступно множество коммерческих препаратов рекомбинантного протеина G.

Химерные белки А/G

Как уже упоминалось выше, протеины А и G обладают комплементарными паттернами связывания Ig (см. табл. 3). Химерные протеины, содержащие иммуноглобулин-связывающие домены обоих белков (см. рис. 11), комбинируют свойства протеинов А и G. Так, протеин А/G связывает более широкий спектр иммуноглобулинов, чем исходные молекулы (см. табл. 3). Существует также химерный белок, полученный из протеина ZZ и протеина G; было показано, что с иммуноглобулинами, к которым протеин А обладает высоким сродством, он связывается хуже, чем протеин А/G. Это можно объяснить, возможно, тем, что ZZ/G содержит всего два протеин-А подобных домена, а протеин А/G – пять (Eliasson et al., 1988).

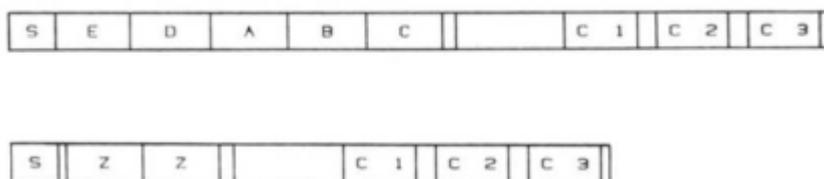


Рис. 11. Схема строения химерных белков А/G (вверху) и ZZ/G (внизу). Обозначения как на рис. 1. (Eliasson et al., 1988).

Связывание Ig очень сильно зависит от рН (Åkerström&Vjörck, 1986). Оптимум рН реакции связывания иммуноглобулинов для протеина G лежит в кислой области, а для протеина А – в щелочной. Было высказано предположение, что создание химерного А/G белка позволит понизить зависимость реакции связывания Ig от рН (Eliasson et al., 1988).

Применение протеинов А и G в медицине и диагностике

Имуноглобулин-связывающие белки используют также и в диагностике и медицине. Так, в лечении аутоиммунных заболеваний аффинные носители на основе протеина А используют для удаления из плазмы крови антител и иммунных комплексов (Jones, 1990), для удаления из аликвоты плазмы иммуноглобулинов G перед анализом на IgM при диагностике краснухи (Langone, 1982).

Протеин А использовали для иммунохимической детекции *S.aureus* в инфицированных тканях дыхательных путей, а также в первичных культурах клеток. Так как протеин А является поверхностным маркером клеток *S.aureus* и связывает IgG, была разработана методика детекции

протеина А, заключающаяся в связывании протеином А биотинилированных IgG. Детекция проводится либо в одну стадию (меченым стрептавидином, см. рис. 12а), либо в две стадии: специфичными к биотину IgG и затем меченым коллоидным золотом протеином А (см. рис. 12б) (Mongodin et al., 2000).

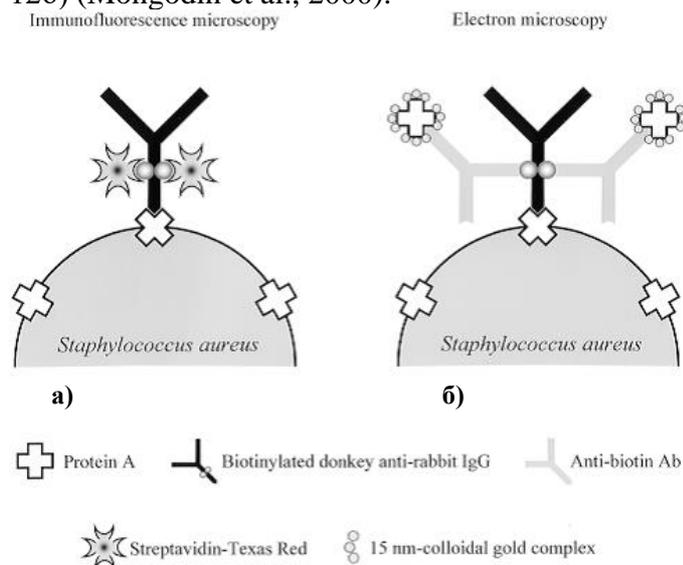


Рис. 12. Детекция *S.aureus* с использованием протеина А как поверхностного маркера.
а) детекция в одну стадию с использованием меченого стрептавидина.
б) детекция в две стадии с использованием анти-биотин-IgG и меченого протеина А.
(Mongodin et al., 2000).

Меченный щелочной фосфатазой протеин G использовали для определения антител класса IgG в ELISA (Nilson et al., 1988).

Протеин G, меченный стабильным хелатом европия, использовали для определения антител, специфичных к столбнячному антигену (Markela et al., 1993).

Заключение

В данном обзоре практически не затронут широкий спектр функций протеинов А, G и L *in vivo*, а также химерные белки L/G и многие другие аспекты проблемы. Однако ясно, что иммуноглобулин-связывающие белки благодаря своим уникальным свойствам являются мощным инструментом как для очистки, так и для изучения иммуноглобулинов. Дополнительные модификации этих свойств методами генной инженерии ещё больше расширяют круг возможностей применения таких белков.

Список литературы

- AKERSTRÖM, B. & BJÖRCK, L. 1986. A physicochemical study of protein G, a molecule with unique immunoglobulin G-binding properties. *Journal of Biological Chemistry*, 261, 10240-10247.
- AKERSTROM, B., NIELSEN, E. & BJORCK, L. 1987. Definition of IgG- and albumin-binding regions of streptococcal protein G. *The Journal of biological chemistry*, 262, 13388-91.
- BJORCK, L. 1988. Protein L. A novel bacterial cell wall protein with affinity for Ig L chains. *Journal of immunology*, 140, 1194-7.
- BJORCK, L. & KRONVALL, G. 1984. Purification and some properties of streptococcal protein G, a novel IgG-binding reagent. *Journal of immunology*, 133, 969-74.
- DEISENHOFER, J. 1981. Crystallographic refinement and atomic models of a human Fc fragment and its complex with fragment B of protein A from *Staphylococcus aureus* at 2.9- and 2.8-Å resolution. *Biochemistry*, 20, 2361-70.
- DERRICK, J. P. & WIGLEY, D. B. 1992. Crystal structure of a streptococcal protein G domain bound to an Fab fragment. *Nature*, 359, 752-4.
- ELIASSON, M., ANDERSSON, R., OLSSON, A., WIGZELL, H. & UHLEN, M. 1989. Differential IgG-binding characteristics of staphylococcal protein A, streptococcal protein G, and a chimeric protein AG. *Journal of immunology*, 142, 575-81.
- ELIASSON, M., OLSSON, A., PALMCRANTZ, E., WIBERG, K., INGANAS, M., GUSS, B., LINDBERG, M. & UHLEN, M. 1988. Chimeric IgG-binding receptors engineered from staphylococcal protein A and streptococcal protein G. *The Journal of biological chemistry*, 263, 4323-7.
- GOMEZ, M. I., LEE, A., REDDY, B., MUIR, A., SOONG, G., PITT, A., CHEUNG, A. & PRINCE, A. 2004. *Staphylococcus aureus* protein A induces airway epithelial inflammatory responses by activating TNFR1. *Nature medicine*, 10, 842-8.
- GOMEZ, M. I., O'SEAGHDHA, M., MAGARGEE, M., FOSTER, T. J. & PRINCE, A. S. 2006. *Staphylococcus aureus* protein A activates TNFR1 signaling through conserved IgG binding domains. *The Journal of biological chemistry*, 281, 20190-6.
- GOUDA, H., TORIGOE, H., SAITO, A., SATO, M., ARATA, Y. & SHIMADA, I. 1992. Three-dimensional solution structure of the B domain of staphylococcal protein A: comparisons of the solution and crystal structures. *Biochemistry*, 31, 9665-9672.
- GOWARD, C. R., MURPHY, J. P., ATKINSON, T. & BARSTOW, D. A. 1990. Expression and purification of a truncated recombinant streptococcal protein G. *The Biochemical journal*, 267, 171-7.
- GRAILLE, M., STURA, E. A., CORPER, A. L., SUTTON, B. J., TAUSSIG, M. J., CHARBONNIER, J. B. & SILVERMAN, G. J. 2000. Crystal structure of a *Staphylococcus aureus* protein A domain complexed with the Fab fragment of a human IgM antibody: structural basis for recognition of B-cell receptors and superantigen activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97, 5399-404.
- GRONENBORN, A. M., FILPULA, D. R., ESSIG, N. Z., ACHARI, A., WHITLOW, M., WINGFIELD, P. T. & CLORE, G. M. 1991. A novel, highly stable fold of the immunoglobulin binding domain of streptococcal protein G. *Science*, 253, 657-61.
- GULICH, S., UHLEN, M. & HOBER, S. 2000. Protein engineering of an IgG-binding domain allows milder elution conditions during affinity chromatography. *Journal of biotechnology*, 76, 233-44.
- GUSS, B., ELIASSON, M., OLSSON, A., UHLEN, M., FREJ, A. K., JORNVALL, H., FLOCK, J. I. & LINDBERG, M. 1986. Structure of the IgG-binding regions of streptococcal protein G. *The EMBO journal*, 5, 1567-75.
- HARTLEIB, J., KOHLER, N., DICKINSON, R. B., CHHATWAL, G. S., SIXMA, J. J., HARTFORD, O. M., FOSTER, T. J., PETERS, G., KEHREL, B. E. & HERRMANN, M. 2000. Protein A is the von Willebrand factor binding protein on *Staphylococcus aureus*. *Blood*, 96, 2149-56.
- HUSE, K., BOHME, H. J. & SCHOLZ, G. H. 2002. Purification of antibodies by affinity chromatography. *Journal of biochemical and biophysical methods*, 51, 217-31.
- INGANAS, M. 1981. Comparison of mechanisms of interaction between protein A from *Staphylococcus aureus* and human monoclonal IgG, IgA and IgM in relation to the classical FC gamma and the alternative F(ab')₂ epsilon protein A interactions. *Scandinavian journal of immunology*, 13, 343-52.
- INGANAS, M., JOHANSSON, S. G. & BENNICH, H. H. 1980. Interaction of human polyclonal IgE and IgG from different species with protein A from *Staphylococcus aureus*: demonstration of protein-A-reactive sites located in the Fab'2 fragment of human IgG. *Scandinavian journal of immunology*, 12, 23-31.
- JANSSON, B., UHLÉN, M. & NYGREN, P.-Å. 1998. All individual domains of staphylococcal protein A show Fab binding. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 20, 69-78.
- JONES, J. V. 1990. Staphylococcal Protein A as an extracorporeal immunosorbent: theoretical and practical considerations. *Transfusion science*, 11, 153-159.
- KASTERN, W., HOLST, E., NIELSEN, E., SJÖBRING, U. & BJÖRCK, L. 1990. Protein L, a bacterial immunoglobulin-binding protein and possible virulence determinant. *Infection and immunity*, 58, 1217-1222.
- KASTERN, W., SJOBRING, U. & BJORCK, L. 1992. Structure of peptostreptococcal protein L and identification of a repeated immunoglobulin light chain-binding domain. *The Journal of biological chemistry*, 267, 12820-5.

- KRAULIS, P. J., JONASSON, P., NYGREN, P.-Å., UHLÉN, M., JENDEBERG, L., NILSSON, B. & KÖRDEL, J. 1996. The serum albumin-binding domain of streptococcal protein G is a three-helical bundle: a heteronuclear NMR study. *FEBS letters*, 378, 190-194.
- LANGONE, J. J. 1982. Applications of immobilized protein A in immunochemical techniques. *Journal of immunological methods*, 55, 277-96.
- MARKELA, E., STAHLBERG, T. H. & HEMMILA, I. 1993. Europium-labelled recombinant protein G. A fast and sensitive universal immunoreagent for time-resolved immunofluorometry. *Journal of immunological methods*, 161, 1-6.
- MERINO, N., TOLEDO-ARANA, A., VERGARA-IRIGARAY, M., VALLE, J., SOLANO, C., CALVO, E., LOPEZ, J. A., FOSTER, T. J., PENADES, J. R. & LASA, I. 2009. Protein A-mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. *Journal of bacteriology*, 191, 832-43.
- MONGODIN, E., BAJOLET, O., HINNRASKY, J., PUCHELLE, E. & DE BENTZMANN, S. 2000. Cell wall-associated protein A as a tool for immunolocalization of *Staphylococcus aureus* in infected human airway epithelium. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*, 48, 523-34.
- MURPHY, J. P., DUGGLEBY, C. J., ATKINSON, M. A., TROWERN, A. R., ATKINSON, T. & GOWARD, C. R. 1994. The functional units of a peptostreptococcal protein L. *Molecular microbiology*, 12, 911-20.
- NILSON, B., BJORCK, L. & AKERSTROM, B. 1988. Enzyme linked immunosorbent assay using alkaline phosphatase conjugated with streptococcal protein G. *Journal of immunoassay*, 9, 207-25.
- NILSON, B. H., LOGDBERG, L., KASTERN, W., BJORCK, L. & AKERSTROM, B. 1993. Purification of antibodies using protein L-binding framework structures in the light chain variable domain. *Journal of immunological methods*, 164, 33-40.
- NILSSON, B., MOKS, T., JANSSON, B., ABRAHMSSEN, L., ELMLAD, A., HOLMGREN, E., HENRICHSON, C., JONES, T. A. & UHLEN, M. 1987. A synthetic IgG-binding domain based on staphylococcal protein A. *Protein engineering*, 1, 107-13.
- O'SEAGHDHA, M., VAN SCHOOTEN, C. J., KERRIGAN, S. W., EMSLEY, J., SILVERMAN, G. J., COX, D., LENTING, P. J. & FOSTER, T. J. 2006. *Staphylococcus aureus* protein A binding to von Willebrand factor A1 domain is mediated by conserved IgG binding regions. *The FEBS journal*, 273, 4831-41.
- OLSSON, A., ELIASSON, M., GUSS, B., NILSSON, B., HELLMAN, U., LINDBERG, M. & UHLEN, M. 1987. Structure and evolution of the repetitive gene encoding streptococcal protein G. *European journal of biochemistry / FEBS*, 168, 319-24.
- PATELLA, V., CASOLARO, V., BJORCK, L. & MARONE, G. 1990. Protein L. A bacterial Ig-binding protein that activates human basophils and mast cells. *Journal of immunology*, 145, 3054-61.
- SAUER-ERIKSSON, A. E., KLEYWEGT, G. J., UHLEN, M. & JONES, T. A. 1995. Crystal structure of the C2 fragment of streptococcal protein G in complex with the Fc domain of human IgG. *Structure*, 3, 265-78.
- SJOBRING, U., BJORCK, L. & KASTERN, W. 1991. Streptococcal protein G. Gene structure and protein binding properties. *The Journal of biological chemistry*, 266, 399-405.
- SJODAHL, J. 1977. Structural studies on the four repetitive Fc-binding regions in protein A from *Staphylococcus aureus*. *European journal of biochemistry / FEBS*, 78, 471-90.
- UHLEN, M., GUSS, B., NILSSON, B., GATENBECK, S., PHILIPSON, L. & LINDBERG, M. 1984. Complete sequence of the staphylococcal gene encoding protein A. A gene evolved through multiple duplications. *The Journal of biological chemistry*, 259, 1695-702.
- WIKSTROM, M., SJOBRING, U., KASTERN, W., BJORCK, L., DRAKENBERG, T. & FORSEN, S. 1993. Proton nuclear magnetic resonance sequential assignments and secondary structure of an immunoglobulin light chain-binding domain of protein L. *Biochemistry*, 32, 3381-6.
- YOUNG, W. W., JR., TAMURA, Y., WOLOCK, D. M. & FOX, J. W. 1984. Staphylococcal protein A binding to the Fab fragments of mouse monoclonal antibodies. *Journal of immunology*, 133, 3163-6.