

АВИДНОСТЬ ПОЛИРЕАКТИВНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ

С. А. БОБРОВНИК

*Институт биохимии им. А. В. Палладина НАН Украины, Киев;
e-mail: s-bobrov@bk.ru*

Проведенный анализ механизма неспецифического взаимодействия полиреактивных иммуноглобулинов (ПРИГ) с антигенами свидетельствует о том, что большинство из традиционно используемых методов, применяемых для оценки аффинности специфических антител с соответствующими антигенами, непригодны для оценки аффинности ПРИГ. Осуществлена сравнительная оценка авидности мышинных и человеческих ПРИГ к овальбумину или к миоглобину лошади с авидностью высокоспецифичных к овальбумину моноклональных антител (мАт). Установлено, что авидность ПРИГ мышей и человека к использовавшимся антигенам ничуть не уступает, а даже несколько превосходит авидность высокоспецифичных мАт к соответствующему антигену.

Ключевые слова: аффинность, авидность, антигены, антитела, полиреактивные иммуноглобулины.

Согласно определению, аффинность (лат. *affinitas* – родственность) – термодинамическая характеристика, количественно описывающая силу взаимодействия веществ, в том числе и взаимодействие антигена с антителом. Чтобы охарактеризовать силу взаимодействия между каким-либо рецептором и лигандом (или между антителом и соответствующим антигеном), обычно используют аффинность взаимодействия, количественным выражением которой является константа аффинности или, что одно и то же, константа равновесия реакции лиганд–рецептор или антитело–антиген. Математическое выражение, позволяющее вычислить константу аффинности, представлено известным законом действия масс, в котором константа равновесия данной реакции равна обратной величине произведения концентраций двух несвязанных между собой реагентов, разделенное на концентрацию образовавшегося комплекса этих реагентов.

Для того, чтобы определить аффинность моновалентных антител в эксперименте, в литературе описано много различных методов [1–5], в том числе и разработанных нами [6–8]. Задача незначительно усложняется, если приходится определять аффинность двухвалентных антител, но и она также успешно решается [4, 7, 9–13]. Намного сложнее определить авидность

многовалентного взаимодействия, т.е. силу суммарного взаимодействия двух- или поливалентного рецептора с поливалентным лигандом, но и в этом случае уже предложены как теоретические, так и экспериментальные подходы [14–19]. Согласно теоретическим оценкам и экспериментальным данным, авидность двухвалентного связывания антител к поливалентному антигену в сотни раз превышает аффинность моновалентного взаимодействия.

Описанные в литературе методы экспериментального определения аффинности антител [3] ранее были использованы и для оценки аффинности полиреактивных антител (ПРИГ), которые неспецифически взаимодействуют с разнообразными антигенами. Согласно этим оценкам, аффинность, а, следовательно, и авидность ПРИГ являются чрезвычайно низкими и в тысячи раз уступают соответствующим оценкам аффинности подавляющего числа специфичных антител. Однако после того как механизм взаимодействия ПРИГ и антигенов стал известным [20, 21] у нас возникли сомнения в том, что применение общепринятых экспериментальных методов для оценки аффинности ПРИГ были приемлемыми для такой цели. В настоящей работе приведены экспериментальные данные, подтверждающие эту точку зрения и свидетельствующие о том, что авидность ПРИГ

является намного более высокой, чем можно было бы ожидать, основываясь на предыдущих экспериментальных оценках аффинности ПРИГ.

Материалы и методы

В качестве антигенов в работе использовали овалбумин, человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), а также миоглобин лошади (Sigma, США). В качестве антител использовали специфичные к овалбумину моноклональные антитела (мАт) – коммерческий продукт фирмы Sigma.

Антигены сорбировали на 96-луночные полистироловые плашки фирмы Dynatech (США) двумя способами в зависимости от того, предназначались ли плашки для исследования мАт или ПРИГ. Чтобы исследовать взаимодействие антител с антигеном, овалбумин сорбировали на плашках традиционным методом, а именно инкубируя раствор овалбумина (концентрация 10–15 мкг/мл в 0,15 М фосфатном буфере, pH 8,5) в лунках плат в течение 24 час при 4 °С с последующей тщательной промывкой плашек от несвязавшегося антигена непосредственно перед опытом.

Чтобы сорбировать антигены на плашке для исследования связывания ПРИГ мы использовали разработанный нами ранее метод, в котором сорбируемый антиген высушивается на плашке из 1%-го раствора NH_4HCO_3 при 37 °С [22]. Ранее нами было показано, что такой способ сорбции антигенов на плашке, во-первых, повышает эффективность сорбции (по сравнению с традиционной инкубацией раствора антигена в плашке), что позволяет использовать на порядок меньшие концентрации антигена. Во-вторых, предложенный метод сорбции приводит к более выраженной денатурации сорбированных антигенов, что может быть недостатком при исследовании связывания специфичных антител, однако является положительным фактором для исследования ПРИГ, обладающих повышенным сродством к денатурированным протеинам.

Образцы сывороток исследуемых мышей или людей, разведенные в определенное количество раз (не менее чем в 300–1000 раз) в физиологическом растворе (NaCl), забуференном фосфатным буфером (pH 7,2–7,4) и содержащем 0,05% твина 20 (ТЗФР), а также 0,1 мг/мл протамина, помещали в лунки плат с сорбированным антигеном. Платы с указанными образцами сы-

вороток инкубировали в течение часа при 37 °С, а затем тщательно отмывали проточной водой от не связавшихся ПРИГ, после чего добавляли козьи анти-IgG, конъюгированные с пероксидазой хрена (Sigma, США).

Плашки инкубировали с указанным конъюгатом в течение 1 ч при 4 °С, после чего тщательно промывали и добавляли субстрат для пероксидазы хрена, а именно – смесь ортофенилендиамина (1 мг/мл) и 0,003%-го H_2O_2 . После развития окраски субстрата реакцию останавливали добавлением к каждой лунке 0,06 мл 2 М серной кислоты и измеряли абсорбцию лунок плат на микрофотоколориметре ELx800, BIO-ТЕК при длине волны 490 нм.

Результаты и обсуждение

После того, как нами был установлен механизм взаимодействия ПРИГ с антигенами [20, 21], появились подозрения, что использовавшиеся ранее методы, пригодные для оценки аффинности и avidности специфичных антител, совершенно непригодны для оценки аффинности и avidности ПРИГ. Дело в том, что для аффинности антител определяют концентрацию свободных антител или же их комплексов с антигеном после достижения в системе динамического равновесия, что позволяет с помощью преобразованного закона действия масс вычислить константу аффинности. При этом происходит связывание друг с другом только антител с антигеном, но исключено связывание антигена с антигеном или антитела с антителом.

Совсем иная ситуация наблюдается при взаимодействии ПРИГ с антигеном. Дело в том, что ПРИГ связывается с антигенами неспецифически, распознавая на поверхности молекулы гидрофобные участки и своими паратопами связывается с такими участками [20, 21]. Очевидно, что, находясь в водном растворе, т.е. в гидрофильной среде, подавляющее большинство нативных протеиновых молекул имеют такую структуру, что гидрофобные участки протеиновой цепи находятся внутри молекулы, а наружу экспонированы только гидрофильные участки полипептидной цепи. Однако полипептидные цепи, свернутые определенным образом в нативную молекулу, не являются абсолютно неподвижными и при физиологических значениях температуры способны в большей или меньшей степени отклоняться от некоего состояния, оптимального для нативной молекулы.

Благодаря такой внутримолекулярной динамике протеиновых молекул на их поверхности могут на короткое время появляться гидрофобные участки, которые способны связаться с гидрофобными участками ПРИГ при столкновении этих молекул. Поскольку протеиновых молекул, экспонирующих на своей поверхности гидрофобные участки, только небольшая часть из общего числа этих молекул, то ясно, что при оценке концентрации молекул протеина, необходимых для блокирования определенной части ПРИГ, нужно во много раз больше молекул протеина, чем требовалось бы для этого, если бы гидрофобные участки постоянно экспонировались на поверхности каждой из молекул данного антигена. По этой причине, вычисленная константа аффинности, рассчитанная на основе оценки того, какая концентрация молекул антигена необходима для блокировки определённой части ПРИГ, неизбежно будет очень сильно занижена.

Более того, очевидным является и тот факт, что с молекулой антигена, у которой кратковременно экспонирован гидрофобный участок, не обязательно должна столкнуться своим паратопом молекула ПРИГ. С намного большей вероятностью с нею столкнется другая такая же молекула антигена, поскольку концентрация молекул антигена в тысячи или даже миллионы раз больше, чем концентрация ПРИГ, используемых в подобных опытах. Благодаря этому может образоваться кратковременная гидрофобная связь между двумя молекулами антигена, тогда как молекула ПРИГ останется свободной, т.е. незаблокированной данными молекулами антигена. Следовательно, из-за подобного эффекта гидрофобного взаимодействия молекул антигена оценка аффинности взаимодействия ПРИГ с данным антигеном, вычисленная на основании закона действия масс, будет еще более заниженной и может казаться в миллионы раз меньше, чем является на самом деле. Исходя из этих рассуждений, становится очевидным, что общепринятые методы, разработанные для оценки аффинности специфических антител с антигеном, основывающиеся на законе действия масс, являются совершенно непригодными для оценки аффинности ПРИГ в отношении растворимых антигенов, поверхность которых является гидрофильной.

Таким образом, проведенный нами анализ механизма неспецифического взаимодействия

ПРИГ и растворимых антигенов приводит к выводу, что экспериментально полученные оценки константы аффинности этого взаимодействия [23–27], скорее всего, очень сильно занижены. Возникает закономерный вопрос, нельзя ли получить какие-либо экспериментальные подтверждения сделанным нами выводам? Очевидно, что для этих целей необходимо использовать не оценку эффективности блокирования ПРИГ растворимым гидрофильным антигеном, а совсем иные подходы.

Одним из таких подходов, на наш взгляд, является оценка скорости диссоциации специфических антител или ПРИГ с сорбированного на плашке антигена. Поскольку реакция ассоциации указанных реагентов с антигенами является обратимой, то связавшиеся с иммобилизованным антигеном ПРИГ или специфические антитела должны постепенно диссоциировать в окружающий раствор, причем скорость этой диссоциации должна быть тем большей, чем ниже аффинность и авидность связи между указанными реагентами. Однако, используя подобный подход, необходимо учитывать следующие соображения.

В том случае, если аффинность и авидность взаимодействия определённого антитела с сорбированным антигеном будет относительно высокой (например, аффинность выше, чем $1,0 \times 10^8 \text{ M}^{-1}$), то не только скорость диссоциации антител в раствор будет чрезвычайно низкой, но и количество диссоциировавших антител при достижении состояния равновесия будет настолько незначительным, что заметить этот процесс с помощью даже такого высокочувствительного метода, как ELISA, не представляется возможным. Об этом свидетельствуют как теоретические расчеты, так и результаты наших экспериментов.

Как видно из рис. 1, инкубация плашки, на которой был вначале сорбирован овальбумин, а затем с ним связались специфические МАТ или неспецифические ПРИГ, не привела к ощутимой диссоциации МАТ или ПРИГ даже в течение 24–48 ч в том случае, если в лунках плат в качестве десорбирующего раствора использовали ТЗФР. Следовательно, таким способом вряд ли можно надеяться оценить процесс диссоциации антител с иммобилизованного антигена. Однако известно, что если в качестве десорбирующего раствора использовать раствор антигена

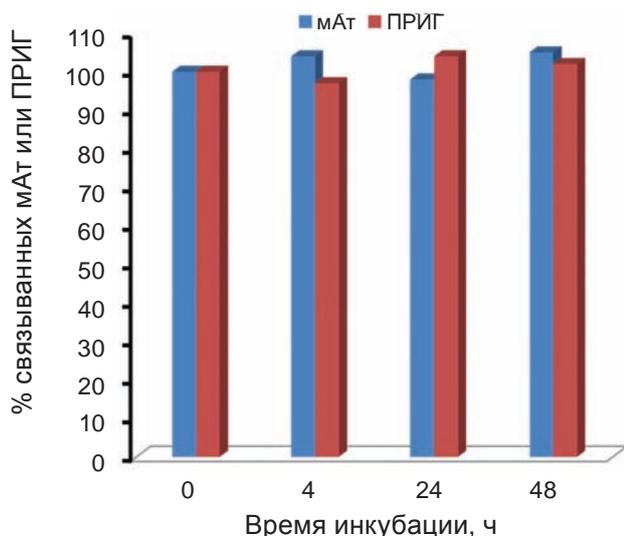


Рис. 1. Отсутствие видимой диссоциации антител или ПРИГ с помощью раствора ТЗФР на протяжении 4–48 ч с иммобилизованного на плашке овальбумина

достаточно высокой концентрации, то благодаря тому, что десорбирующиеся антитела будут немедленно блокированы растворимым антигеном и лишены способности опять связываться с иммобилизованным на плашке антигеном, этот процесс становится весьма ощутимым и, таким образом, его легко можно зарегистрировать с помощью ELISA.

Действительно, нами было обнаружено, что инкубация раствора овальбумина (9 мг/мл) в

лунках плат, на которых вначале был иммобилизован овальбумин, а затем на нем сорбированы мАт, приводила к весьма ощутимой элюции ранее связавшихся антител (рис. 2, А). При этом инкубация указанного раствора овальбумина в течение 4 ч приводила к десорбции примерно 35% связанных с овальбумином антител, а увеличение времени инкубации до 24 ч повышало часть десорбированных антител до 75%. Таким образом, несмотря на весьма высокую аффинность и, следовательно, высокую авидность высокоспецифичных мАт, данный метод позволяет вполне успешно осуществить процесс десорбции мАт с иммобилизованного на плашке антигена.

Вместе с тем, тот же раствор овальбумина совершенно был не способен индуцировать диссоциацию ПРИГ, которые также были предварительно сорбированы на плашке с иммобилизованным овальбумином (рис. 2, А). Ни за 4 ч, ни за 24 ч количество связанных с плашкой ПРИГ не уменьшилось. Эти результаты свидетельствуют о том, что авидность связывания ПРИГ с данным антигеном является, по крайней мере, не меньшей, чем у высокоаффинных мАт, а, возможно, даже существенно выше.

Отметим также, что увеличение концентрации овальбумина в элюирующем растворе до 36 мг/мл приводило, как и ожидалось, к более высокой эффективности десорбции мАт с иммобилизованного альбумина (рис. 2, Б). В то

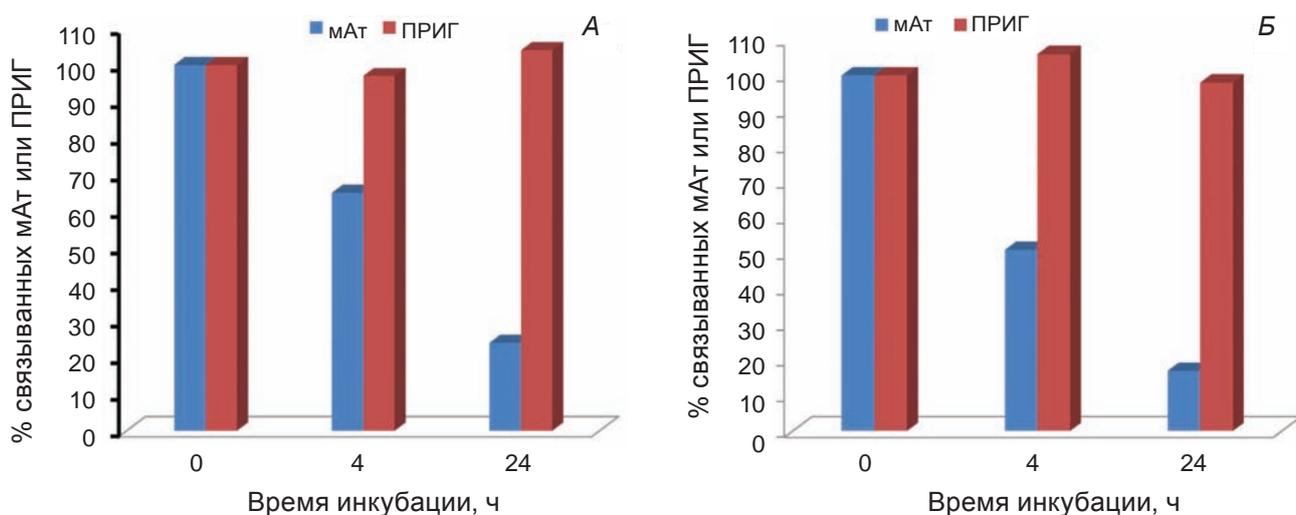


Рис. 2. Диссоциация антител и полное отсутствие диссоциации ПРИГ с сорбированного на плашке овальбумина под влиянием раствора овальбумина высокой концентрации: А – 9 мг/мл, Б – 36 мг/мл овальбумина

же время даже такой концентрированный раствор овальбумина не оказал никакого влияния на процесс десорбции ПРИГ. Таким образом, данный метод однозначно продемонстрировал, что avidность связывания ПРИГ с антигенами ничуть не уступает avidности данного высокоаффинного мАт, а, возможно, даже значительно превосходит ее. Можно также добавить, что сходные результаты нами были получены и при использовании не мАт, а сывороточных мышечных антител, полученных после 3-кратной иммунизации мышей овальбумином. Следовательно, полученные нами результаты не связаны с какими-то особенностями использовавшихся мАт, а являются типичными для специфических антител, avidность которых, как показали наши результаты, не превосходит, а даже уступает avidности связывания ПРИГ к тому же антигену.

Еще одним методом, который позволяет сравнить avidность связывания специфических антител и ПРИГ, является метод десорбции предварительно сорбированных на антигене антител или ПРИГ при помощи концентрированных растворов хаотропных ионов. Наиболее эффективной хаотропной солью является раствор KSCN, который при концентрации 3,0–4,0 М приводит к диссоциации значительной части иммунных комплексов, образованных даже высокоаффинными антителами и соответствующим антигеном. В связи с этим была сделана попытка использовать и этот подход для сравнения avidности связывания мАт с сорбированным на плашке овальбумином с avidностью ПРИГ, связанного с сорбированным на плашке овальбумином или миоглобином лошади.

Было установлено (рис. 3), что инкубация раствора KSCN в лунках плашки, на которой иммобилизованы указанные антигены, а затем на них были сорбированы мАт или ПРИГ, действительно приводит к элюции связавшихся мАт и ПРИГ, которая зависит от концентрации KSCN. При этом в течение 20 мин при комнатной температуре 4 М раствор KSCN вызывал диссоциацию около 45% ранее связанных мАт с антигеном, тогда как 5 М раствор KSCN индуцировал диссоциацию до 80% мАт. Те же растворы KSCN вызывали также диссоциацию ПРИГ с иммобилизованного овальбумина, однако эффект был несколько слабее, чем при диссоциации высокоаффинных мАт (рис. 3).

Еще слабее ПРИГ диссоциировали под влиянием тех же растворов KSCN, но с имму-

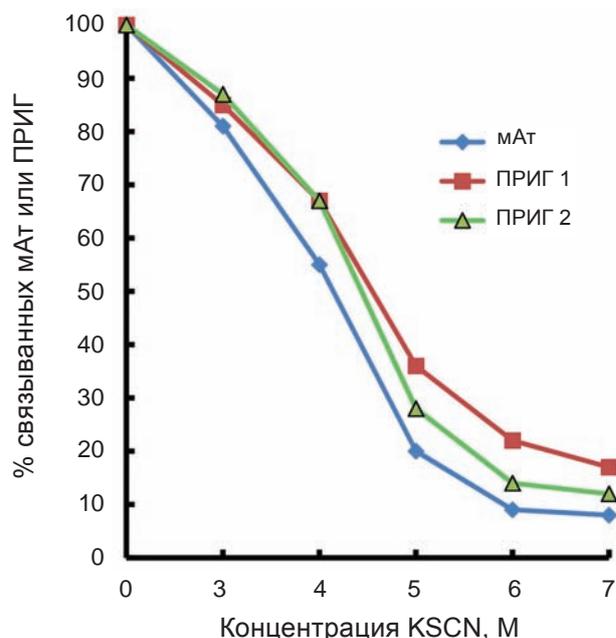


Рис. 3. Диссоциация мАт, специфичных к овальбумину или диссоциация ПРИГ, которые предварительно были связаны с иммобилизованным на плашке овальбумином (1) или миоглобином лошади (2) и диссоциировали под влиянием растворов KSCN различной молярности в течение 20 мин при комнатной температуре

билизованного на плашке миоглобина лошади. Таким образом, обоими методами было продемонстрировано, что ПРИГ обладает, по крайней мере, не меньшей avidностью связывания с антигенами, чем высокоспецифичные и высокоаффинные мАт, а то и заметно превосходят их avidность. Следовательно, сделанный в настоящей статье вывод о том, что прошлые оценки константы аффинности для ПРИГ, свидетельствовавшие о низкой аффинности ПРИГ были неверными, полностью подтвердились в наших экспериментах.

В связи с вышеизложенным необходимо обратить внимание на следующее. В последнее время некоторыми авторами было высказано предложение считать полиреактивными антителами такие иммуноглобулины, которые не только способны связываться, по крайней мере, с несколькими серологическими неродственными антигенами, но и для которых это связывание является низкоаффинным, а именно, если константа диссоциации этого связывания находится выше микромолярных значений [28]. Очевидно, что с учетом полученных нами результатов

такое предложение не может быть принятым. К тому же создается впечатление, что многие авторы не замечают различий между естественными (натуральными) антителами, способными с низкой аффинностью перекрестно реагировать с некоторыми неродственными антигенами, и ПРИГ, которые реагируют с подавляющим числом различных антигенов благодаря взаимному гидрофобному взаимодействию. Как показывают результаты наших исследований, между ПРИГ и естественными антителами имеются принципиальные различия.

В дополнение к сказанному необходимо добавить следующее. В представленных на рисунках настоящей статьи экспериментальных результатах фигурировали данные, полученные с ПРИГ, которые были созданы искусственно, путем трансформации специфичных мАт в ПРИГ при помощи 4 М раствора KSCN. Однако необходимо подчеркнуть, что такие же результаты были получены нами и в том случае, когда в опытах использовали не искусственно полученные ПРИГ, а ПРИГ интактных сывороток человека или мышей. Это подтверждает ранее сделанный вывод о сходстве ПРИГ интактных сывороток и ПРИГ, полученных искусственно путем трансформации специфичных антител в ПРИГ. Таким образом, на основании полученных данных можно считать установленным, что ПРИГ взаимодействуют с антигеном с очень высокой авидностью, которая, по крайней мере, не уступает авидности высокоспецифичных моноклональных антител, а, возможно, даже превосходит авидность специфичных антител. Очевидно также, что ранее существовавшее мнение о чрезвычайно низкой аффинности и авидности ПРИГ было ошибочным.

АВИДНІСТЬ ПОЛІРЕАКТИВНИХ ІМУНОГЛОБУЛІНІВ

С. А. Бобровник

Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна
НАН України, Київ;
e-mail: s-bobrov@bk.ru

Проведений аналіз механізму неспецифічної взаємодії поліреактивних імуноглобулінів (ПРИГ) з антигенами свідчить про те, що більшість методів, які традиційно використовуються для оцінки аффінності специфічних антитіл із відповідними антигенами, не

підходять для оцінки аффінності ПРИГ. Зроблено порівняльну оцінку авидності ПРИГ мишей або людини до овальбуміну чи до міоглобіну коня з авидністю високоспецифічних до овальбуміну моноклональних антитіл (мАт). Встановлено, що авидність ПРИГ мишей та людини до використаних антигенів ніскільки не менша, а навіть дещо перевищує авидність високоспецифічних мАт до відповідного антигену.

Ключові слова: аффінність, авидність, антигени, антитіла, поліреактивні імуноглобуліни.

AVIDITY OF POLYREACTIVE IMMUNOGLOBULINS

S. A. Bobrovnik

Palladin Institute of Biochemistry, National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: s-bobrov@bk.ru

An analysis of the mechanism of interaction between polyreactive immunoglobulins (PRIG) and antigen was conducted and it was shown that most of the traditional methods of antibody affinity evaluation are not applicable for PRIG affinity. The comparative assessment of the mouse and human PRIG avidity against ovalbumin and horse myoglobin and the avidity of specific monoclonal antibodies against ovalbumin have shown that the avidity of PRIG not only is much less than the avidity of monoclonal antibodies but even exceeds it.

Key words: affinity, avidity, antigen, antibodies, polyreactive immunoglobulins.

References

1. Underwood P. A. Measurement of the affinity of antiviral antibodies. *Adv. Virus. Res.* 1988;34:283-309.
2. Steward M. W., Lew A. M. The importance of antibody affinity in the performance of immunoassays for antibody. *J. Immunol. Methods.* 1985;78:173-190.
3. Friguet B., Chaffotte A. F., Djavadi-Ohanian L., Goldberg M. E. Measurements of the true affinity constant in solution of antigen-antibody complexes by enzyme-linked immunosorbent assay. *J. Immunol. Methods.* 1985;77:305-319.
4. Stevens F. J. Modification of an ELISA-based procedure for affinity determination: correction

- necessary for use with bivalent antibody. *Mol. Immunol.* 1987;(10):1055-1060.
5. Goldberg M. E., Djavadi-Ohanian L. Methods for measurement of antibody/antigen affinity based on ELISA and RIA. *Curr. Opin. Immunol.* 1993;(2):278-281.
 6. Bobrovnik S. A. Determination of antibody affinity using ELISA. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 1999;71(6):90-102. (In Russian).
 7. Bobrovnik S. A. Determination of antibody affinity by ELISA. Theory. *J. Biochem. Biophys. Methods.* 2003;57(3):213-236.
 8. Bobrovnik S. A., Demchenko M. A., Komisarenko S. V., Stevens F. J. Traditional ELISA methods for antibody affinity determination fail to reveal the presence of low affinity antibodies in antisera: an alternative approach. *J. Mol. Recognit.* 2010;23(5):448-456.
 9. Gopalakrishnan P. V., Karush F. Antibody affinity. VI. Synthesis of bivalent lactosyl haptens and their interaction with anti-lactosyl antibodies. *Immunochemistry.* 1974;(6):279-283.
 10. Bobrovnik S. A. ELISA-based method for determining the affinity of bivalent antibodies of two specificities in a mixture. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2000;72(3):133-141.
 11. Bobrovnik S. A. A new method for the evaluation of antibody affinity based on serial dilutions of studied antigen-antibody mixture. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2002;74(5):128-132.
 12. Bobrovnik S. A. Avidity of IgG antibodies and its theoretical evaluation. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2010;82(2):111-117. (In Russian).
 13. Bobrovnik S. A., Demchenko M. A., Komisarenko S. V. New approach in evaluating affinity of bivalent antibodies by the method of surface plasmon resonance. Theory. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2012;84(4):79-87. (In Russian).
 14. Crothers D. M., Metzger H. The influence of polyvalency on the binding properties of antibodies. *Immunochemistry.* 1972;3:341-357.
 15. Zhou H.-X. Single-chain versus dimeric protein folding: thermodynamic and kinetic consequences of covalent linkage. *J. Am. Chem. Soc.* 2001;123:6730-6731.
 16. Zhou H.-X. Quantitative account of the enhanced affinity of two linked scFvs specific for different epitopes on the same antigen. *J. Mol. Biol.* 2003;329:1-8.
 17. Zhou H.-X. Quantitative relation between intermolecular and intramolecular binding of pro-rich peptides to SH3 domains. *Biophys. J.* 2006;91:3170-3181.
 18. Gobush W., Yamakawa H., Stockmayer W. H., Magee W. S. Statistical mechanics of wormlike chains. I. Asymptotic behavior. *J. Chem. Phys.* 1972;57:2839-2843.
 19. Yamakawa H., Stockmayer W. H. Statistical mechanics of wormlike chains. II. Excluded volume effects. *J. Chem. Phys.* 1972;57:2843-2854.
 20. Bobrovnik S. A. Polyreactive immunoglobulins recognize hydrophobic parts of proteins. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2001;73(2):116-122. (In Russian).
 21. Bobrovnik S. A. Mechanisms of interaction of polyreactive immunoglobulins and protein antigens. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2002;74(2):26-33. (In Russian).
 22. Bobrovnik S. A., Starodub N. F. A new and simple method of antigen immobilization on immunological plates. *Immunologia.* 1988;(5):83-85. (In Russian).
 23. Avrameas S., Ternynck T. The natural autoantibodies system: between hypotheses and facts. *Mol. Immunol.* 1993;(12):1133-1142.
 24. Bouvet J. P., Stahl D., Rose S., Quan C. P., Kazatchkine M. D., Kaveri S.V. Induction of natural autoantibody activity following treatment of human immunoglobulin with dissociating agents. *J. Autoimmun.* 2001;(2):163-172.
 25. Notkins A. L. Polyreactivity of antibody molecules. *Trends Immunol.* 2004;(4):174-179.
 26. Zhou Z. H., Tzioufas A. G., Notkins A. L. Properties and function of polyreactive antibodies and polyreactive antigen-binding B cells. *J. Autoimmun.* 2007;(4):219-228.
 27. Bobrovnik S. A. Polyreactive immunoglobulins: molecular properties and functions. *Comments Molec. Cell. Biophys.* 1999;9:323-356.
 28. Dimitrov J. D., Planchais C., Roumenina L. T., Vassilev T. L., Kaveri S.V., Lacroix-Desmazes S. Antibody polyreactivity in health and disease: statu variabilis. *J. Immunol.* 2013;191:993-999.

Получено 03.02.2014