

**Аннотация проекта (ПНИЭР), выполняемого в рамках ФЦП
«Исследования и разработки по приоритетным направлениям
развития научно-технологического комплекса России на 2014 –
2020 годы»**

**Номер Соглашения о предоставлении субсидии/государственного
контракта:** 14.607.21.0060

Название проекта: Получение бифункциональных терапевтических
антител для профилактики вирусных заболеваний при мукозальном
применении

Основное приоритетное направление: Науки о жизни

Исполнитель: федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования "Московский государственный университет
имени М.В.Ломоносова"

Руководитель проекта: Кирпичников Михаил Петрович

Должность: Декан биологического факультета МГУ имени М.В.Ломоносова

E-mail: ta12345@list.ru

Ключевые слова: профилактика вирусных заболеваний, адресные
бифункциональные агенты, иммуноглобулин а, вирус гриппа а, мукозальное
применение, рекомбинантные антитела, экспрессия в клетках
млекопитающих, активация врожденного иммунитета

Цель проекта

1. Реализуемый проект направлен на создание эффективного, доступного и безопасного средства профилактики инфекции различными серотипами вируса гриппа А на основе бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител к гемагглютиниру, обеспечивающих направленную активацию системы врожденного иммунитета слизистых оболочек человека.
2. Получение бифункциональных терапевтических антител для профилактики вирусных заболеваний при мукозальном применении предполагает создание линий-продуцентов, наработку и исследование биологической активности экспериментальных образцов бифункциональных IgG/IgA-гибридных антител, способных при мукозальном применении нейтрализовать различные серотипы вируса гриппа А.

Основные планируемые результаты проекта

В результате выполнения проекта будут:

- разработаны генетические конструкции для экспрессии бифункциональных IgG/IgA- гибридных антител различного биоинженерного формата (мономерные и димерные формы человеческого иммуноглобулина А);
- созданы клеточные линии CHO - продуценты бифункциональных IgG/IgA- гибридных антител различного биоинженерного формата;
- проведена оптимизация биосинтеза, разработаны эффективные методы выделения и очистки бифункциональных IgG/IgA-гибридных антител;
- получены 4 экспериментальных образца бифункциональных IgG/IgA- гибридных антител;
- проведен биохимический и иммунохимический анализ экспериментальных образцов бифункциональных IgG/IgA- гибридных антител;
- проведены биологические испытания эффективности и безопасности экспериментальных образцов бифункциональных IgG/IgA-гибридных антител

на модельных животных, летально инфицированных различными коллекционными штаммами;

- по результатам исследований будет проведен отбор наиболее эффективного биоинженерного формата кандидатного терапевтического антитела.

2. Бифункциональные IgG/IgA – гибридные антитела содержат

- белковый домен, обеспечивающий специфичное взаимодействие с поверхностным маркером вирусов.

- белковый домен, способствующий элиминации вирусов.

Структура и чистота экспериментальных образцов бифункциональных IgG/IgA

- гибридных антител будут подтверждены современными методами генетического, биохимического анализа, в том числе гель-фильтрационной хроматографией и масс-спектрометрией.

Степень очистки экспериментальных образцов бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител должна быть не менее 95% по данным гель-электрофоретического и хроматографического анализов.

Бифункциональные IgG/IgA – гибридные антитела должны взаимодействовать с поверхностными антигенами не менее 5 актуальных штаммов вируса.

Бифункциональные IgG/IgA – гибридные антитела должны характеризоваться параметром EC50 связывания с белками вирусной оболочки различных серотипов вируса не более 500 нг/мл.

Эффективная дозировка бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител при мукозальном применении должна быть не более 0,1 мг/кг веса у опытных животных.

Краткая характеристика создаваемой/созданной научной (научно-технической, инновационной) продукции

Разрабатываемые бифункциональные IgG/IgA-гибридные антитела представляют собой новый класс противовирусных препаратов, обладая рядом значительных преимуществ:

- данные препараты обладают возможностью узнавать и уничтожать вирусные частицы различных серотипов вируса гриппа А, что позволяет ожидать высокой эффективности профилактического эффекта вне зависимости от конкретного сезонного штамма вируса.

- предлагаемые терапевтические антитела являются полностью человеческими. Данные антитела будут характеризоваться или полным отсутствием или чрезвычайно низкой иммуногенностью, что повысит эффективность терапевтического воздействия. По сравнению с известными препаратами для лечения гриппа предлагаемое лекарственное средство будет характеризоваться минимумом побочных эффектов и не обладать токсичностью, что делает его особенно востребованным для профилактики заражения гриппом у детей, беременных женщин, пациентов с ослабленной иммунной системой.

Новизна предлагаемого проекта заключается в том, что в качестве второго

белкового компонента бифункционального агента по уничтожению вирусных частиц будут использованы константные домены человеческого иммуноглобулина А. Использование для создания терапевтического средства константного домена IgA класса должно активировать широкий набор антитело-опосредованных эффекторных функций, специфичных в отношении эпителиального покрова слизистых оболочек дыхательных путей, основного пути проникновения вируса в организм человека. Таким образом, в результате объединения переменных доменов IgG антитела и константных доменов IgA антитела основным терапевтическим агентом разрабатываемого средства профилактики инфекции станут бифункциональные IgG/IgA- гибридные антитела. На их основе будут получены средства мукозальной профилактики (аэрозоли, капли, другие средства орошения слизистой).

Получение и исследование терапевтических рекомбинантных антител IgA-подкласса является актуальным, активно изучаемым направлением современной молекулярной иммунологии и биотехнологии. В мире ведутся исследования по получению рекомбинантных антител IgA-подкласса для терапии инфекционных и онкологических заболеваний. По своей проблематике, научно-технологическому уровню, глубине решения поставленных задач полученные и планируемые результаты проекта полностью соответствуют наиболее передовым мировым исследованиям в данной области.

Основными способами достижения заявленных результатов являются

- получение различных функционально-активных изоформ бифункциональных IgG/IgA- гибридных антител, исследование их иммунохимической и биологической активности;
- выбор оптимальной композиции средств мукозального применения бифункциональных IgG/IgA- гибридных антител.

Среди факторов риска проекта в плане дальнейшей коммерциализации необходимо отметить относительно более низкий выход, наблюдаемый при экспрессии бифункциональных IgG/IgA- гибридных антител по сравнению с антителами IgG-подкласса. В связи с этим важной задачей проекта является разработка эффективных способов биосинтеза, повышения выхода целевого продукта и стабильности конечной субстанции. Учитывая сложную структурную организацию изоформ иммуноглобулина А, большое внимание в проекте уделяется разработке не только методов биосинтеза, но и усовершенствованию методов выделения и очистки экспериментальных образцов антител. Значительная роль отводится разработке и валидации методов аналитического контроля качества разрабатываемых препаратов.

Назначение и область применения, эффекты от внедрения результатов проекта

Иммунопрепарат на основе бифункциональных IgG/IgA- гибридных антител широкой специфичности в отношении серотипов вируса гриппа А может быть рекомендован в первую очередь для специфической профилактики заражения гриппом пациентов групп риска (дети, пожилые люди, беременные женщины, люди, страдающие диабетом, астмой, сердечно-сосудистыми заболеваниями, люди с ослабленной системой), а также для профилактики и лечения населения в целом. Кроме того, разработка препарата уменьшит затраты системы здравоохранения на получение сезонных вакцин и борьбу с возможными пандемиями. Потребителями ожидаемого результата являются население через аптечную систему, лечебно-профилактические учреждения, производители товаров для медико-биологического сектора экономики России, вся система здравоохранения в целом.

На завершающей стадии проекта будут проведены работы, целью которых является разработка технических требований и предложений по разработке, производству и эксплуатации продукции с учетом технологических возможностей и особенностей промышленного партнера – ФГУП НПО «Микроген» Минздрава РФ. В результате выполнения исследований эффективности и безопасности экспериментальных образцов бифункциональных IgG/IgA-гибридных антител будет выбран прототип создаваемого лекарственного препарата.

В 2017 г. планируется проведение ОТП по масштабированию процесса биосинтеза бифункциональных IgG/IgA-гибридных антител, будет получен опытный образец для проведения доклинических исследований.

Доклинические исследования препарата будут осуществляться с учетом особенностей его мукозального использования.

Выполнение проекта позволит не только провести разработку новых терапевтических средств для лечения и профилактики гриппа, но и сформировать значительный научно-технический задел в новой области иммунофармакологии, основанной на использовании рекомбинантных IgG/IgA-гибридных иммуноглобулинов против различных возбудителей.

Текущие результаты проекта

Получены генетические конструкции и оптимальные системы экспрессии бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител. Для этого осуществлены биосинтез и клонирование константных доменов тяжелой цепи иммуноглобулина А IgA1 и IgA2m1-изотипов, а также J-цепи. Проведена сборка генов бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител, адаптированных для эукариотической экспрессии. Разработан лабораторный технологический регламент получения клеточных линий CHO, продуцентов бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител. Получены клеточные линии CHO-продуценты мономерных форм бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител IgA1 и IgA2m1-изотипов, а также их димеров. Также получена клеточная линия CHO - продуцент широкоспецифичных к гемагглютиниnam вируса гриппа А

полноразмерных антител IgG-подкласса для использования в качестве образца сравнения. Проведена работа по оптимизации процесса биосинтеза с целью увеличения выхода бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител. Разработана методика выделения и очистки бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител с помощью синтезированного сорбента на основе антитело-специфичных моноклональных антител. Проведены биосинтез, выделение и очистка экспериментальных образцов бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител IgA1- и IgA2-подклассов, а также полноразмерного антитела IgG-подкласса.

Проведено исследование аффинности и кросс-специфичности антител IgG-подкласса и бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител в отношении различных штаммов серотипов H1N1 и H3N2. Показано, что полученные образцы взаимодействуют со всеми исследованными штаммами. При этом наибольшая аффинность наблюдается в отношении I группы гемагглютининов вируса гриппа А.