

В ходе выполнения проекта на тему «Получение бифункциональных терапевтических антител для профилактики вирусных заболеваний при мукозальном применении» по Соглашению о предоставлении субсидии от 23.09.2014 № 14.607.21.0060 с Минобрнауки России в рамках федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» на этапе № 2 в период с 01.01.2015 по 30.06.2015 совместно с соисполнителем проекта, Всероссийским научным центром молекулярной диагностики и лечения, выполнялось получение клеточных линий-продуцентов бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител, включающее в себя следующие работы:

- разработка лабораторного технологического регламента получения клеточных линий-продуцентов бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител;
- получение генетических конструкций и оптимальных систем экспрессии бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител;
- создание клеточных линий-продуцентов бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител;
- оптимизация процесса биосинтеза с целью увеличения выхода бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител;
- разработка методики выделения и очистки бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител;
- проведение маркетинговых исследований.

При этом были получены следующие результаты:

1. Разработан лабораторный технологический регламент получения клеточных линий СНО, продуцентов бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител. Технологическая схема получения состоит из 3-х стадий: трансфекции культуры, селекции линии-продуцента, анализа клеточной линии.
2. 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. Получены оптимальные системы экспрессии

мономерных форм бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител двух изотипов, а также J-цепи.

3. Разработана система экспрессии, позволяющая осуществить получение мономерных и димерных форм бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител. Получены 4 клеточные линии СНО, продуценты мономерной и димерной форм бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител IgA1 и IgA2m1-изотипов. При селекции клонов-продуцентов использована УНУ «Система для производства клонов эукариотических штаммов продуцентов биологически активных белков ClonePIX FL» (приобретена в рамках Программы развития МГУ).

4. При разработке оптимальных систем экспрессии использован собственный сконструированный коллективом проекта бипромоторный вектор. Данный вектор позволяет осуществлять сбалансированную метотрексатную селекцию линий-продуцентов гетеросубъединичных белков.

5. Разработана методика выделения и очистки бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител, позволяющая осуществлять выделение и двухступенчатую хроматографическую очистку мономерной и димерной форм бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител с чистотой не менее 95%. При разработке методики выделения и очистки на основе моноклональных антител, специфичных к иммуноглобулину А человека, синтезированы и исследованы аффинные сорбенты, необходимые для проведения хроматографии бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител.

6. В теоретической части ПНИ проведены маркетинговые исследования, подготовлен отчет. Исследованы товарная и стоимостная структура российского рынка препаратов для профилактики и лечения гриппа, проведена оценка доли рынка, которую смогут занять препараты на основе бифункциональных IgG/IgA – гибридных антител.

Все задачи второго этапа работ выполнены в установленные сроки в соответствии с планом-графиком исполнения обязательств и условиями технического задания Соглашения № 14.607.21.0060 о предоставлении субсидии от 23 сентября 2014 г.