

ПНИЭР «Получение и иммунохимическое исследование рекомбинантных антител-кандидатов для комплексной профилактики и терапии заболеваний, вызванных вирусом Эбола»

Этап №3 (01.07.2015 – 31.12.2015)

по теме: КОНСТРУИРОВАНИЕ СИСТЕМЫ ЭКСПРЕССИИ РЕКОМБИНАНТНЫХ АНТИТЕЛ АНТИ-ЭБОЛА

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от 28.11.2014г. №14.607.21.0096 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 №3 в период с 01 июля 2015 года по 31 декабря 2015 года в соответствии с Планом-графиком исполнения обязательств по Соглашению **выполнялись следующие работы:**

1. Селекция, скрининг и клонирование новых мышинных гибридом.
2. Нарботка, выделение и очистка новых моноклональных антител анти-Эбола.
3. Иммунохимическая характеристика моноклональных антител анти-Эбола из ранее полученных и новых гибридом.
4. Проведение отбора не менее 3-х кандидатных моноклональных антител анти-Эбола

При этом были **получены следующие результаты:**

1. Проведена иммунизация мышей линии Balb/c иммуноконъюгатом рекомбинантного белка G вируса Эбола с белком теплового шока HSP65. Получены линии гибридом.
2. В результате проведенных работ по селекции, скринингу и клонированию новых мышинных гибридом были отобраны 5 гибридом, проведено изотипирование культуральных супернатантов. Для проведения детального иммунохимического анализа и отбора антител-кандидатов были отобраны 3 гибридомы, продуцирующие антитела IgM изотипа, и 2 – IgG изотипа. Осуществлены выделение и очистка всех антител из асцитной жидкости методами аффинной хроматографии на белок G- сефарозе (антитела GPE118 и GPE534 IgG-изотипа) и преципитации эуглобулинов (антитела GPE274, GPE325 и GPE463 IgM-изотипа).
3. Показано наличие специфического связывания полученных антител с рекомбинантным белком G вируса Эбола в растворе и при его иммобилизации. По данным иммуноблоттинга все МоАт из новой панели анти-Эбола интенсивно взаимодействуют с полноразмерным белком G. При этом ряд антител взаимодействуют с минорными фрагментами гликопротеина, что подтверждает направленность МоАт к разным эпитопам.
4. В результате картирования эпитопов новой панели МоАт анти-Эбола методом сэндвич-ИФА установлены 3 кандидатных МоАт. Получены кДНК вариабельных доменов кандидатных антител и установлены их нуклеотидные и аминокислотные последовательности. Проведено конструирование экспрессионных векторов для биосинтеза рекомбинантных антител анти-Эбола.

Область применения результатов исследований

Эпидемия геморрагической лихорадки Эбола представляет серьезную угрозу всему мировому сообществу. Поэтому достижение целей проекта помимо коммерческой составляющей представляет несомненный гуманитарный вклад в объединение усилий разных стран по борьбе с данной угрозой. Возникновение эпидемии в 2014 г. свидетельствует о том, что эпидемии геморрагической лихорадки Эбола могут иметь в дальнейшем рецидивирующий характер. В связи с данным обстоятельством представляется жизненно необходимым формирование наряду со средствами вакцинации национального резерва терапевтических средств для борьбы с

последствиями заражения вирусом Эбола, а также индустриальных возможностей, позволяющих в короткие сроки увеличить производство инъекционных форм рекомбинантных терапевтических средств на основе моноклональных антител.

Эффекты от внедрения результатов проекта

Возможным потребителем результатов ПНИЭР и созданного на их основе фармацевтического препарата являются организации Министерства здравоохранения, а также Министерства чрезвычайных ситуаций РФ. На завершающей стадии проекта (2016 г.) будут проведены работы, целью которых является разработка технических требований и предложений по разработке, производству и эксплуатации продукции, с учетом технологических возможностей и особенностей индустриального партнера – ФГУП НПО «Микроген» Минздрава РФ. Также будут разработаны рекомендации по проведению биологических испытаний рекомбинантных антител анти-Эбола. В 2017 г. планируется проведение работ по масштабированию процесса биосинтеза рекомбинантных антител анти-Эбола. Будут начаты биологические испытания и доклинические исследования.

Формы и объемы коммерциализации результатов проекта

Формы и объемы коммерциализации результатов проекта будут определены на завершающей стадии проекта (2016 г.) по результатам разработки технических требований и предложений по разработке, производству и эксплуатации продукции, с учетом технологических возможностей и особенностей индустриального партнера – ФГУП НПО «Микроген» Минздрава РФ.