

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

Этап №4 (01.01.2016 – 30.06.2016)

по теме: ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ОБРАЗЦОВ 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 №4 в период с 01 января 2016 года по 30 июня 2016 года в соответствии с Планом-графиком исполнения обязательств по Соглашению **выполнялись следующие работы:**

1. Экспериментальные исследования по созданию клеточных линий-продуцентов рекомбинантных антител анти-Эбола.
2. Разработка лабораторного технологического регламента получения рекомбинантных антител анти-Эбола.
3. Получение экспериментальных образцов рекомбинантных 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.
5. Созданы клеточные линии СНО, продуценты рекомбинантных химерных полноразмерных антител GPE118, GPE325 и GPE534, специфичных к гликопротеину вируса Эбола. Разработан лабораторный технологический регламент получения рекомбинантных антител анти-Эбола. Получены экспериментальные образцы рекомбинантных антител GPE118, GPE325, GPE534 анти-Эбола в количестве более 15 мг.
6. Все кандидатные МоАт анти-Эбола обладают аффинностью, выраженной значением константы диссоциации комплекса антиген-антитело не более 5 нМ, что удовлетворяет требованию ТЗ. также 3 кандидатных МоАт направлены к разным

эпитомам рекомбинантного гликопротеина вируса Эбола, что является весомой предпосылкой для создания на их основе трехкомпонентного терапевтического средства для нейтрализации вирусных частиц.

7. Учеными из США и Канады создана композиция терапевтических антител Zmapp для профилактики и лечения геморрагической лихорадки Эбола. Антитела нарабатываются в листьях табака. Набор рекомбинантных антител, разрабатываемый в ходе реализации настоящего проекта, может оказаться альтернативной использованием композиции Zmapp или даже превосходить последний по своим биологическим свойствам.

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 промышленных 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 промышленного 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 промышленного партнера.