

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.