

Экспрессия фрагментов GD2-специфичных антител в *Pichia pastoris*

Научный руководитель – Холоденко Роман Васильевич

Калиновский Даниэль Владиславович

Студент (магистр)

Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
Москва, Россия

E-mail: dcalinovschi@yahoo.com

Фрагменты рекомбинантных антител находят широкое применение в терапии и диагностике онкологических заболеваний. В аспекте клинического применения, антиген-связывающие фрагменты антител обладают рядом преимуществ по сравнению с полноразмерными моноклональными антителами (мАт). Они имеют гораздо меньшие размеры, чем мАт, что способствует их лучшему проникновению вглубь солидных опухолей. Различные фрагменты антител накапливаются в более высоких концентрациях в опухолях по сравнению с полноразмерными антителами. Также продукция рекомбинантных форм фрагментов обычно не требует посттрансляционной модификации, поэтому они могут быть экспрессированы не только в клетках млекопитающих, но и в других экспрессионных системах, для которых характерны более высокие выходы и сниженная себестоимость получения рекомбинантного белка.

Ранее мы показали, что различные GD2-специфичные моноклональные антитела индуцируют клеточную гибель в опухолевых клетках, несущих данный антиген [1], и изучили ряд молекулярных механизмов данного процесса [2]. Фрагменты GD2-специфичных антител сохраняют способность индуцировать цитотоксические эффекты в опухолевых клетках. Они ингибируют пролиферацию GD2-позитивных клеток в дозо-зависимой манере и обладают противоопухолевым потенциалом *in vitro* и *in vivo* [3, 4].

Целью данной работы было создание экспрессионной системы для продукции scFv- и Fab-фрагментов GD2-специфичных антител в клетках *Pichia pastoris*. На основании последовательностей переменных доменов легкой и тяжелой цепей GD2-специфичного антитела был проведен дизайн конструкций scFv- и Fab-фрагментов GD2-специфичных антител. Были синтезированы кДНК scFv- и Fab-фрагментов, оптимизированные для максимальной экспрессии в клетках *Pichia pastoris*. Анализ трансформированных клонов нескольких штаммов клеток *Pichia pastoris* по экспрессии scFv- и Fab-фрагментов GD2-специфичных антител проводили методами ИФА и проточной цитофлуориметрии.

Работа поддержана грантом РФФИ № 15-29-01300.

Источники и литература

- 1 Doronin I.I., et al. Ganglioside GD2 in reception and transduction of cell death signal in tumor cells. BMC Cancer, 2014, 14, 295. doi: 10.1186/1471-2407-14-295.
- 2 Vishnyakova P.A., et al. Caspases participation in the cell death, induced by GD2-specific monoclonal antibody. Bioorg. Khim., 2014, 40, 1–10.
- 3 Doronin I.I., et al. Preparation of Fab-fragments of GD2-specific antibodies and analysis of their antitumor activity in vitro. Bull. Exp. Biol. Med., 2013, 154(5), 658-663.
- 4 Kholodenko I.V., et al. Antitumor activity of GD2-specific antibodies and their Fab-fragments in the mouse tumor model. Immunologiya (Russia), 2013, 34, 199-203.