

Создание новой биотехнологической платформы получения растительного биосимиляра трастузумаба**Научный руководитель – Комарова Татьяна Валерьевна***Шпудейко П.С.¹, Шешукова Е.В.¹*

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия

В настоящее время наряду со стандартными методами получения антител в культуре животных клеток ведется поиск альтернативных способов их продукции. Многообещающим направлением представляется использование растительной системы, так как клетки растений и животных обладают сходными механизмами синтеза и посттрансляционной модификации белка. Ранее в нашей лаборатории была разработана технология получения растительного биосимиляра трастузумаба (РБТ) [2], антитела, узнающего онкобелок HER2/neu на поверхности раковых клеток. Повышенный уровень экспрессии гена, кодирующего HER2/neu, выявляется в ~25-30% случаев рака молочной железы. Было показано, что РБТ по своей способности ингибировать рост опухоли на мышинной модели не уступает терапевтическим антителам.

Целью данной работы было создание новых подходов к продукции РБТ в растении. Были решены следующие задачи: (1) конструирование векторов, кодирующих легкую (ЛЦ) и тяжелую (ТЦ) цепь антитела, а также их слитый вариант под контролем промотора гена гомолога ингибитора протеаз Кунитца (ГИПК) [3]; (2) оценка уровня накопления РБТ и процессируемого варианта РБТ (пРБТ) в растении; (3) проверка способности пРБТ ингибировать пролиферацию клеток, характеризующихся повышенной экспрессией онкогена *HER2/neu (ErbB2)*.

Первый подход заключается в использовании, выделенного из *Nicotiana benthamiana*, нового транскрипционного промотора гена ГИПК (ПрГИПК). Мы создали конструкции на основе бинарных векторов, где под контролем ПрГИПК находился ген ЛЦ или ТЦ трастузумаба. Мы показали, что уровень продукции РБТ при использовании ПрГИПК сравним с уровнем, обеспечиваемым используемым в биотехнологии 35S-промотором вируса мозаики цветной капусты.

В рамках второго подхода мы создали вектор, содержащий 35S-промотор или ПрГИПК и кодирующий слитый белок пРБТ, состоящий из ЛЦ и ТЦ, соединенных между собой линкером - сайтом узнавания протеазы kex2p дрожжей. Известно, что такой «мостик» эффективно расщепляется kex2p-подобными протеазами растений [1]. Мы показали, что слитый белок эффективно накапливается и процессируется в растении эндогенными протеазами как при использовании 35S-промотора, так и ПрГИПК, причем уровень продукции сравним. Анализ с помощью MALDI показал, что процессинг происходит с образованием ожидаемых продуктов (ЛЦ и ТЦ), а эффективность составляет около 85%. Функциональная активность пРБТ была оценена по способности ингибировать пролиферацию клеток BT-474 с повышенной экспрессией онкогена *HER2/neu (ErbB2)* при использовании МТТ-теста. Мы показали, что полученные новым способом антитела пРБТ ингибируют пролиферацию клеток с такой же эффективностью, что и РБТ.

Работа выполнена при поддержке РНФ (проект №16-14-00002) и РФФИ (проект №17-29-08012).

Источники и литература

- 1) Jiang L. & Rogers J.C. // (1999) Plant J. Cell Mol. Biol. 18, 23–32.

- 2) Komarova T.V. et al. // (2011) PLoS ONE 6, 17541–17548.
- 3) Sheshukova E.V. et al. // (2017) Front. Plant Sci. 8, 2137.