

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от 27.06.2014 № 14.604.21.0068 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 01.07.2015 по 31.12.2015 выполнялись следующие работы:

1. Получение генно- инженерной плазмидной конструкции для продукции антитела к β 1-адренорецептору в клетках млекопитающих.
2. Разработка модифицированной методики определения уровня β 1-адренорецептора на поверхности клеток млекопитающих на основе метода радиолигандного анализа.
3. Отработка условий и разработка методики иммобилизации клеток млекопитающих на планшете для ИФА.
4. Проведение дополнительных патентных исследований и подача заявки на патент.
5. Оформление отчетной документации в соответствии с требованиями технического задания и актов Минобрнауки России.
6. Получение генно- инженерной плазмидной конструкции для экспрессии гена β 1-адренорецептора в клетках млекопитающих.
7. Отбор пациентов в исследование, их клиническое обследование и продолжение формирования банка биообразцов.

При этом были получены следующие результаты:

Согласно разработанному дизайну сконструирован и проверен бицистронный плазмидный вектор рMC4IPW, предназначенный для эффективной экспрессии генов в клетках млекопитающих. Оптимизированный и синтезированный ген β 1-адренорецептора (β 1-АР) человека встроен в вектор с получением плазмидной конструкции рMC4IPW-ADRB1opt. Синтезированные оптимизированные гены рекомбинантных мышинных и химерных (мышь/человек) АТ встроены в сконструирован двухкассетный вектор рDC, предназначенный для производства рекомбинантных АТ в клетках млекопитающих, с получением плазмидных конструкций рDC-mAB2367 и рDC-hAB2367, правильность сборки подтверждена. Также изготовлены пилотные количества препаратов мышинового и химерного АТ. Разработана методика определения содержания β 1-АР на поверхности клеток млекопитающих посредством радиолигандного анализа. Сформулированы технические требования, определен состав и произведены опытные партии универсальных компонентов для иммуноферментного теста определения аутоантител к β 1-АР человека. Подобраны оптимальные условия и отлажена методика иммобилизации клеток млекопитающих на планшете для ИФА. При оптимальных условиях потери клеток при проведении ИФА составляют порядка 1,5%, а коэффициент вариации результатов не превышает 10%. К окончанию третьего этапа в исследование включено 109 человек, продолжается формирование банка биообразцов. Начато формирование двух групп сравнения. При помощи иммуноокрашивания и цитофлуорометрического анализа показано, что трансфекция клеток плазмидой рMC4IPW-ADRB1opt приводит к экспонированию рекомбинантного β 1-АР на внешней поверхности клетки. Функциональная активность плазмидных конструкций удостоверена методом транзитной трансфекции. Продемонстрировано эффективное связывание рекомбинантных АТ с пептидом β 8, соответствующим по аминокислотной последовательности второй внеклеточной петле β 1-АР человека. Установлено, что мышинное и химерное АТ способны конкурировать друг с другом за связывание с антигеном.

Выполненные работы и промежуточные результаты соответствуют требованиям технического задания и плана-графика исполнения обязательств по Соглашению.

Комиссия Минобрнауки России признала обязательства по Соглашению на отчетном этапе выполненными надлежащим образом.