

**Информация о выполнении проекта по Соглашению с Минобрнауки России о предоставлении субсидии № 14.604.21.0057 от 27.06.2014 за 3-й этап работ**

**Наименование организации - Получателя субсидии:**

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук (ИХБФМ СО РАН).

В ходе выполнения проекта по Соглашению о предоставлении субсидии от 27.06.2014 № 14.604.21.0057 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 выполнены следующие работы:

1. Оработана технология наработки и очистки рекомбинантных штаммов вируса осповакцины, продуцирующих ГМ-КСФ и лактаптин.
2. Разработан Лабораторный регламент наработки и очистки рекомбинантных штаммов вируса осповакцины.
3. Проведена наработка, концентрирование и очистка экспериментальных образцов рекомбинантных штаммов вируса.
4. Проведена биохимическая, вирусологическая и молекулярно-генетическая характеристика экспериментальных образцов рекомбинантного вируса.
5. Проведен подбор методов анализа специфической активности экспериментальных образцов для разработки Программы и методики исследовательских испытаний экспериментальных образцов рекомбинантных штаммов вируса.
6. Проведены подбор и постановка культивирования клеток рака молочной железы человека и нормальных клеток человека для проведения исследовательских испытаний.
7. Подведены итоги этапа и оформлена отчетная документация.
8. За счет внебюджетных средств: проведена закупка материалов и оборудования для очистки и хранения рекомбинантных штаммов вируса.

**При этом были получены следующие результаты:**

1. Оработана технология наработки и очистки рекомбинантных штаммов вируса осповакцины, продуцирующих ГМ-КСФ и лактаптин. Технология включает культивирование клеток 4647, аттестованных для производства вакцин в России, инфицирование их рекомбинантными штаммами вируса с множественностью 0,1 БОЕ/клетку, получение лизатов инфицированных клеток и выделение вируса методом центрифугирования в градиенте плотности сахарозы 25 - 40%. Концентрация вируса при таком способе очистки составляет, в среднем, 1 мг/мл. Чистота препарата вируса составляет не менее 90%. Инфекционность полученных экспериментальных образцов рекомбинантных штаммов составляет не менее  $1 \times 10^7$  БОЕ/мл.
2. Разработан Лабораторный регламент № ЛР 01538629 -01- 2015 «Кандидатное лекарственное средство на основе противоопухолевого белка лактаптина и онколитического вируса осповакцины».

3. Проведена наработка, концентрирование и очистка 4х экспериментальных образцов рекомбинантных штаммов вируса - VVGMCSF-Lact, VV-GMCSF-S(long)-Lact, VV-GMCSF-S-Lact и VV-GMCSF-dGF (контрольный рекомбинант, содержащий вставку гена ГМ-КСФ в районе гена тимидинкиназы и делецию гена VGF (virus growth factor)). Акты наработки и очистки экспериментальных образцов рекомбинантных штаммов вируса прилагаются к отчету о ПНИ.

4. Проведена биохимическая, вирусологическая и молекулярно-генетическая характеристика экспериментальных образцов рекомбинантного вируса. Структура и стабильность рекомбинантных клонов подтверждена методом ПЦР и последующим секвенированием района вставки. Экспрессия гена лактапина в составе рекомбинантных штаммов вируса осповакцины проанализирована методом иммуногистохимии в клетках почки китайского хомячка ВНК. Цитотоксическая активность рекомбинантов в отношении клеток аденокарциномы молочной железы человека MCF 7 и MDA-MB-231 подтверждена методом МТТ/ХТТ теста.

5. Проведен подбор методов анализа специфической активности экспериментальных образцов для разработки Программы и методики исследовательских испытаний экспериментальных образцов рекомбинантных штаммов вируса:

- оценка цитотоксической активности на культурах раковых клеток молочной железы человека (МТТ/ХТТ тест);

- оценка противоопухолевой активности на экспериментальных животных с трансплантированными опухолями.

6. Проведены подбор и постановка культивирования клеток человека для проведения исследовательских испытаний. Подобраны условия культивирования следующих линий клеток: аденокарциномы молочной железы человека MCF-7 (гормон-зависимый рак) и MDA-MB 231 (тринегативный рак), MCF-10A (кистозно-фиброзная мастопатия). Подобраны условия получения и культивирования клеток первичной культуры молочной железы BN2 (нетрансформированные клетки).

7. Подведены итоги этапа и оформлена отчетная документация. Проведены дополнительные патентные исследования.

8. За счет средств промышленного партнера проекта ООО "Фабрика биополимеров" проведена закупка материалов и оборудования для очистки и хранения рекомбинантных штаммов вируса.

### **Оценка элементов новизны научных (технологических) решений, применявшихся методик и решений.**

Результат проекта - кандидатное лекарственное средство с направленной иммуностимулирующей и апоптоз-индуцирующей противоопухолевой активностью на основе рекомбинантного штамма вируса осповакцины - соответствуют мировому уровню исследований, проводимых в области поиска и создания инновационных противораковых средств.

В настоящем проекте для усиления противоопухолевого эффекта лактапина впервые использован вирус осповакцины, который и сам обладает природными онколитическими свойствами. Впервые для конструирования рекомбинантного онколитического вируса используется комбинация генов иммуностимулирующего белка (ГМ-КСФ) и апоптоз-индуцирующего белка (лактапин). Совместное введение в геном вируса генов апоптоз-индуцирующего белка и ГМ-КСФ будет приводить к усилению лизиса раковых клеток, одновременному высвобождению большого количества слабо иммуногенных опухолеассоциированных антигенов и презентации их иммунной системе организма. Такой подход создания противоопухолевых препаратов используется впервые.

Результаты проекта будут востребованы исследовательскими организациями, биотехнологическими компаниями, разрабатывающими новые противоопухолевые препараты, фармацевтическими компаниями, которые занимаются производством противоопухолевых терапевтических

средств, и организациями практического здравоохранения для терапии злокачественных новообразований и улучшения качества жизни онкологических больных.

**Информация о полученных на отчетном этапе охраноспособных РИД:**

В ходе выполнения 3-го Этапа проекта получены 1 Результат интеллектуальной деятельности: "Рекомбинантный штамм VV-GMCSF-Lact вируса осповакцины, обладающий онколитической активностью и продуцирующий гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующий фактор человека и онкотоксический белок лактаптин".

Заявка на изобретение № 2015145043 от 20.10.2015

**Полученные результаты полностью соответствуют требованиям Технического задания и Плана-графика.**