

**Информация о выполнении проекта по Соглашению с Минобрнауки России  
о предоставлении субсидии № 14.607.21.0063 от 23.09.2014  
за 2-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).

**1. Основные результаты проекта (2-й этап)**

1. Проведен отбор опухоль-адресованных пептидов в системе *in vitro* на культурах раковых клеток человека: аденокарциноме молочной железы MCF-7 и MDA-MB-231 и аденокарциноме легких А 549.
2. Проведен отбор опухоль-адресованных пептидов в системе *in vivo* в модели ксенографтов.
3. Получены рекомбинантные плазмиды, кодирующие рекомбинантные слитые белки, состоящие из отобранных пептидов и лактапина.
4. Получены рекомбинантных штамма *E.coli*, продуцирующие слитые белки «адресный пептид-лактапин».
5. Проведено депонирование генетических конструкций и штаммов-продуцентов рекомбинантных слитых белков, полученных на первом и втором этапе выполнения проекта, в коллекции Межинститутского Центра коллективного пользования СО РАН "Коллекция экстремофильных микроорганизмов и типовых культур" (ЭМТК).

1). При селекции фаговой пептидной библиотеки в системе *in vitro* на культурах раковых клеток человека: отобраны пептиды, специфически связывающиеся с клетками аденокарциномы молочной железы MCF-7 и MDA-MB-231 и аденокарциномы легких А 549. Сравнительный анализ специфичности отобранных пептидов, экспонированных бактериофагами, показал достоверное связывание пептидов YTYDPWLIFPAN и FIPFDPMSMRWE и SLPVYAPALTSR с раковыми клетками линии MDAMB-231 и пептида FIPFDPMSMRWE с раковыми клетками линии MCF-7 по сравнению с бактериофагом дикого типа. Последовательности пептидов YTYDPWLIFPAN и FIPFDPMSMRWE выбраны для создания генетических конструкций, обеспечивающих синтез слитых белков.

2). При селекции фаговой пептидной библиотеки на мышах линии SCID с трансплантированной опухолью человека MDA-MB-231 отобраны фаговые клоны, несущие пептиды SLPVYAPALTSR, GREPAASLLSHF, GTGLVTLPRRLTV и DSQFNKYSIATV (частоты встречаемости 19,4%, 16,6%, 13,8%, 13,8%, соответственно). Бактериофаги, несущие пептиды SLPVYAPALTSR и GTGLVTLPRRLTV, выбраны для сравнительного анализа специфичности связывания по сравнению с бактериофагом дикого типа в системе *in vivo*.

3). Получены рекомбинантные плазмиды pET-15b\_T3\_RL2 (6057 п.н.) и pET-15b\_T4\_RL2 (6057 п.н.), кодирующие рекомбинантные слитые белки, состоящие из отобранных пептидов YTYDPWLIFPAN и FIPFDPMSMRWE и лактапина.

Получены рекомбинантные плазмиды pET-15b\_RL\_RGD\_H (6048 п.н.) и pET-15b\_RL\_H\_RGD (6045 п.н.), кодирующие рекомбинантные слитые белки, состоящие из iRGD-пептида и лактапина. Правильность встройки гена слитого белка подтверждена методами ПЦР, рестрикционного анализа и определения нуклеотидной последовательности встройки.

4). Получены четыре рекомбинантных штамма *E.coli* BL21(DE3)/pET-15b\_T3\_RL, BL21(DE3)/pET-15b\_T4\_RL, BL21(DE3)/pET-15b\_RL\_RGD\_H и BL21(DE3)/pET-15b\_RL\_H\_RGD, продуцирующие слитые белки «адресный пептид-лактапин».

Рекомбинантные штаммы *E. coli* получены на основе реципиентного штамма *E. coli* BL21(DE3) методом временной доминантной селекции с использованием в качестве маркера гена устойчивости к ампициллину.

5). Оформлены паспорта и проведено депонирование генетических конструкций и штаммов-продуцентов рекомбинантных слитых белков, полученных на первом и втором этапе выполнения проекта. Генетических конструкции и штаммы-продуценты задепонированы в коллекции Межинститутского Центра коллективного пользования СО РАН "Коллекция экстремофильных микроорганизмов и типовых культур" (ЭМТК) под регистрационными номерами: *E.coli* BL21(DE3)/pET-15b\_T1\_RL – КЭМТК 2126; *E.coli* BL21(DE3)/pET-15b\_T2\_RL - КЭМТК 2127; *E.coli* BL21(DE3)/pET-15b\_T3\_RL - КЭМТК 2157; *E.coli* BL21(DE3)/pET-15b\_T4\_RL - КЭМТК 2158; *E.coli* BL21(DE3)/pET-15b\_RL\_RGD\_H - КЭМТК 2128; *E.coli* BL21(DE3)/pET-15b\_RL\_H\_RGD - КЭМТК 2129.

В настоящем проекте для усиления противоопухолевого эффекта лактапина впервые использованы опухоль-адресованные пептиды, отобранные с помощью пептидной фаговой библиотеки и обеспечивающие доставку противоопухолевого средства в опухоль.

Результаты проекта - опухоль-адресованные противоопухолевые агенты на основе природного белка лактапина - соответствуют мировому уровню исследований, проводимых в области поиска и создания инновационных противораковых средств.

## **2. Назначение и область применения результатов проекта**

Полученные в результате выполнения проекта научно-технические результаты могут быть использованы в фундаментальных и прикладных исследованиях, а также при производстве лекарственных средств и в практическом здравоохранении.

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.

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

**Комиссия Минобрнауки России** признала обязательства по Соглашению №14.607.21.0063 - исполненными надлежащим образом.