

**Информация о выполнении проекта по Соглашению с Минобрнауки России о предоставлении субсидии № 14.607.21.0063 от 23.09.2014 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 23.09.2014 № 14.607.21.0063 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 Проведены дополнительные патентные исследования.
- 2 Отработаны методы выделения и очистки рекомбинантных слитых белков.
- 3 Отработаны методы контроля качества рекомбинантных слитых белков.
- 4 Разработана методика получения рекомбинантных слитых белков.
- 5 Проведена наработка экспериментальных образцов рекомбинантных слитых белков.
- 6 Разработана Программа и методики испытаний (ПМ) экспериментальных образцов рекомбинантных слитых белков.
- 7 Разработана методика оценки количественных параметров, характеризующих специфическую активность рекомбинантных слитых белков
- 8 За счет внебюджетных средств (средства Индустриального партнера ООО «ИРВИН 2») проведена закупка материалов и оборудования для очистки и анализа качества рекомбинантных слитых белков.

**При этом были получены следующие результаты:**

1. Проведены дополнительные патентные исследования. Получены достоверные данные об уровне техники и тенденциях развития исследуемого объекта, выявлены технические решения, близкие по сущности и достигаемому результату к собственным разработкам, обоснована целесообразность правовой охраны созданного РИД и проведена экспертиза на патентную чистоту созданного изобретения в отношении России.

2. Проведена отработка методов выделения и очистки рекомбинантных слитых белков, включающая следующие стадии: аффинная хроматография на IMAC Sepharose 6 Fast Flow; ионообменная хроматография на DEAE Sephadex A-25; катионообменная хроматография (1) на SP Sepharose Fast Flow; катионообменная хроматография (2) на SP Sepharose Fast Flow (концентрирование белка); анионообменная хроматография на сорбенте Q Sepharose Fast Flow.

3. Проведена отработка методов контроля качества рекомбинантных слитых белков. Контроль качества слитых белков проводили следующими методами: секвенирование ДНК генетических конструкций со встроенными генами опухоль-адресованного пептида и лактапина; электрофорез в ПААГ для оценки чистоты препаратов рекомбинантных белков; Вестерн-блот анализ рекомбинантных слитых белков с антителами к лактапину для подтверждения подлинности полученных белков; ВЭЖХ для анализа чистоты слитых белков; MALDI TOF масс-спектрометрия для подтверждения первичной структуры слитых белков; ЛАЛ-тест для оценки содержания бактериальных эндотоксинов в экспериментальных образцах; оценка аномальной токсичности рекомбинантных слитых белков (согласно ГФ XII).

4. Разработана методика получения рекомбинантных слитых белков, включающая наработку биомассы клеток-продуцентов слитых белков, выделение целевых рекомбинантных белков из биомассы клеток-продуцентов, очистку целевых белков и анализ качества полученных экспериментальных образцов рекомбинантных слитых белков.

5. Проведена наработка пяти экспериментальных образцов рекомбинантных слитых белков T1-RL, T2-RL, T3-RL, RL\_RGD\_H и RL\_H\_RGD, содержащих опухоль-адресованный пептид, обеспечивающий специфичное взаимодействие с поверхностными маркерами раковых клеток, и апоптоз-индуцирующий белок лактаптин, способствующий элиминации раковых клеток.

6. Разработана Программа и методики испытаний экспериментальных образцов рекомбинантных слитых белков, включающие разработку спецификации на экспериментальные образцы с обоснованием используемых при испытаниях методов контроля и определением нормативных показателей качества испытываемых препаратов.

7. Разработана методика оценки количественных параметров, характеризующих специфическую активность рекомбинантных слитых белков, включающая: - оценку цитотоксической активности (ИК50) слитых белков методом МТТ-теста на культурах раковых клеток; оценку адресности слитых белков путем определения тропности к опухоли; - оценку противоопухолевой активности рекомбинантных слитых белков путем определения индекса торможения роста опухоли *in vivo* на моделях алло- и ксенотрансплантантов.

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

В настоящее время создание противоопухолевых препаратов на основе природных белков и пептидов, способных вызывать апоптотическую гибель раковых клеток и селективно подавлять рост опухоли является одним из активно развивающихся направлений поиска новых противораковых лекарственных средств.

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

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 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 получен 1 Результат интеллектуальной деятельности: «Опухоль-специфический пептид для адресной химиотерапии опухолей молочной железы человека». Заявка на изобретение № 2015132522 от 04.08.2015

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