

Определение параметров связывания продуцированных в растениях антител против онкобелка Her2/neu (ErbB2) с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса

Научный руководитель – Комарова Татьяна Валерьевна

Липскеров Федор Алексеевич

Студент (специалист)

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Химический факультет, Кафедра химии природных соединений, Москва, Россия

E-mail: fedor@lipskerov.ru

Большим достижением в лечении рака стала разработка технологии создания рекомбинантных моноклональных антител, направленных против онкобелков раковых клеток. Имеющийся на фармацевтическом рынке антираковые препараты, такие как герцептин (трастузумаб), авастин (бевацизумаб), перьета (пертузумаб), производятся в культуре животных клеток (клетки опухоли яичника китайского хомячка) и стоят очень дорого. Производство биологических аналогов, или биосимиляров, в растениях обещает снизить не только стоимость антираковых антител, но за счет их управляемой гликомодификации и биоинженерии (создание биспецифических антител) улучшить терапевтический эффект антиракового антитела. Ранее в нашей лаборатории были получены растительные биосимиляры трастузумаба (РБТ) и пертузумаба (РБП) [1]. Целью данной работы было создание биспецифического антитела «два в одном», способного в одном антителе совместить свойства трастузумаба и пертузумаба (РБТ/РБП), и определить параметры их связывания с онкобелком Her2/neu (ErbB2) с помощью метода поверхностного плазмонного резонанса. В результате проведенной работы были получены два типа биспецифических антител РБТ/РБП. Первое, НСР-ЛСН (Рис. 1), содержит тяжелые цепи (ТЦ) РБП и легкие цепи (ЛЦ) РБТ; второе, Vi-mAb (Рис. 2), состоит из ТЦ РБП и ЛЦ, содержащих последовательно переменный домен ЛЦ трастузумаба и полноразмерную ЛЦ пертузумаба. Таким образом, оба антитела, НСР-ЛСН и Vi-mAb, содержат переменные домены РБП и РБТ. Исследование аффинитета РБП и РБТ методом плазмонного резонанса [2] проводили с использованием прибора ProteOn XPR36 Protein Interaction Array System (Bio-Rad) и микрочипа GLM как описано ранее [3]. На микрочипе иммобилизовали антиген, представляющий собой внеклеточную часть белка ErbB2. Оказалось, что для аптечного трастузумаба (Герцептина) константа скорости ассоциации (K_a) составляет $5,9 \cdot 10^5 \pm 1,8 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ c}^{-1}$, а константа скорости диссоциации (K_d) $5,9 \cdot 10^5 \pm 1,8 \cdot 10^5 \text{ c}^{-1}$; значение K_d (при расчете на наномоль антител) равняется $0,173 \pm 0,095 \text{ нМ}$. Для РБТ эти показатели оказались в 10 раз выше, но находятся в пределах показателей, принятых для модифицированного трастузумаба ($K_d = 10^{-8} - 10^{-10} \text{ M}$) [4, 5]. При исследовании биспецифических антител мы также определили константы диссоциации при расчете на наномоль антител: для Vi-mAb она составила $0,05 \pm 0,01 \text{ нМ}$, а для НСР-ЛСН - $0,181 \pm 0,0761 \text{ нМ}$, т.е. полученные K_d находятся в пределах показателей, принятых для модифицированного трастузумаба. [4, 5].

Таким образом, все исследованные нами варианты антител против онкобелка Her2/neu характеризуются высокой аффинностью к этому антигену по результатам данных поверхностного плазмонного резонанса.

Работа выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда №16-14-00002.

Источники и литература

- 1) Комарова, Т.В. и др. (2017) Биохимия, 82, 687-699.
- 2) Иванов, А.С. (2012), Современные технологии в медицине, 4, 142–153.
- 3) Vanappagari, S. et al. (2012) J. Biomol. Struct. Dyn., 30, 594–606.
- 4) Troise, F. et al. (2008) FEBS J., 275, 4967–4979.
- 5) Bostrom, J. et al. PloS One, 6, e17887.

Иллюстрации

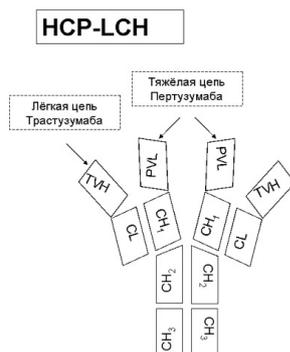


Рис. 1. Структура HCP-LCH

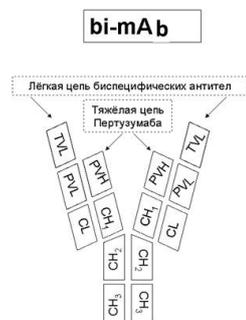


Рис. 2. Структура bi-mAb