

## Исследование общей токсичности и иммуногенности ErbB2-специфичного адресного токсина DARPin-LoPE *in vivo*.

Научный руководитель – Шилова Ольга Николаевна

**Киселева Дарья Владимировна**

*Студент (магистр)*

Московский физико-технический институт, Москва, Россия

*E-mail: Darkiseleva@mail.ru*

На сегодняшний день препараты на основе моноклональных антител применяются для лечения широкого спектра различных заболеваний, занимая большую часть биофармацевтического рынка. Однако их недостаточная эффективность делают актуальной задачу поиска альтернативных терапевтических агентов. Одними из таких соединений стали адресные токсины, состоящие из направляющего и эффекторного модуля.

Молекулы DARPins (Design Ankyrin Repeat Proteins) - белки с анкириновыми повторами представляют собой альтернативные каркасные белки неиммуноглобулиновой природы. На основе DARPin в лаборатории молекулярной иммунологии ИБХ РАН был создан ErbB2-специфичный адресный токсин DARPin-PE40, эффективность действия которого была показана в исследованиях *in vitro*, а также *in vivo* в иммунодефицитных мышах с привитыми опухолями [1].

Данная работа посвящена изучению в здоровых иммунокомпетентных мышах общих токсических и иммуногенных свойств противоракового адресного токсина DARPin-LoPE, специфичного к онкомаркеру ErbB2. Так как рекомбинантные белки, содержащие в своем составе токсины бактериального происхождения, обладают иммуногенными свойствами цитотоксический модуль в DARPin-LoPE представлен адаптированным для использования в терапевтических целях низкоиммуногенным вариантом фрагмента псевдомонадного экзотоксина А (LoPE). Специфичная мишень исследуемого белка - ErbB2 - эпидермальный фактор роста человека, гиперэкспрессируется в 20-30% случаев рака молочной железы и яичников.

Были получены и очищены рекомбинантные белки DARPin-PE40 и DARPin-LoPE в бактериальной системе экспрессии. Специфическая цитотоксическая активность исследуемых белков в отношении ErbB2-гиперэкспрессирующих клеток была подтверждена на клетках линии SK-BR-3 посредством МТТ теста, IC<sub>50</sub> для DARPin-PE40 составила 0,1 пМ, для DARPin-LoPE - 16 пМ. Исследуемые белки вводили мышам линии BALB/c в хвостовую вену через день. Анализ общей токсичности белков производился путем отслеживания изменения веса животных, измерения активности печеночных аминотрансфераз в сыворотке крови и содержания лейкоцитов в крови. Оценка общей иммуногенности осуществлялась путем анализа титра специфических антител в сыворотке крови животных с помощью иммуноферментного анализа.

Нами было обнаружено, что белок DARPin-LoPE обладает значительно меньшей общей токсичностью *in vivo* по сравнению с DARPin-PE40, что в сочетании с сопоставимой эффективностью *in vitro* делает белок DARPin-LoPE перспективным агентом для разработки препаратов противоопухолевой терапии.

Работа поддержана грантом РФФИ №17-00-00121 КОМФИ.

## Источники и литература

- 1) Sokolova E., Proshkina G., Kutova O., Shilova O., Ryabova A., Schulga A., Stremovskiy O., Zdobnova T., Balalaeva I., Deyev S. Recombinant targeted toxin based on HER2-specific DARPIn possesses a strong selective cytotoxic effect in vitro and a potent antitumor activity in vivo // J Control Release. 2016. V. 10. P. 48-56.