

ПОЛУЧЕНИЕ ГУМАНИЗИРОВАННЫХ АНТИТЕЛ К ОПУХОЛЕВОМУ АНТИГЕНУ PRAME ДЛЯ ИММУНОТЕРАПИИ РАКА

Научный руководитель – Долгих Дмитрий Александрович

Рыбченко Владислав Сергеевич

Аспирант

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра биоинженерии, Москва, Россия

E-mail: vladislavrusia@yandex.ru

Белок PRAME (Preferentially expressed antigen of melanoma) относится к группе раково-тестикулярных антигенов, экспрессия которых наблюдается преимущественно в семенниках, но не в других здоровых тканях человека [1]. Ген *PRAME* часто экспрессируется в опухолевых клетках при различных видах рака, в частности меланом, острых и хронических лейкозах, немелкоклеточном раке легкого, карциномах груди, раке почки, саркомах [2]. Таким образом, антиген PRAME можно рассматривать как привлекательную потенциальную мишень для иммунотерапии опухолей.

На основе ранее полученных с помощью гибридомной технологии двух мышиных моноклональных антител (мАТ) к рекомбинантному белку PRAME были сконструированы гуманизированные мАТ. Для гуманизации применяли метод пересадки гипервариабельных участков (CDR). Для этого использовали последовательности CDR-участков вариабельных доменов мышиных мАТ 5D3 и 6H8 и человеческие каркасные области. В качестве источников человеческих каркасных областей использовали гены зародышевых линий человеческих антител, наиболее гомологичных вариабельным доменам мышиных мАТ 5D3 и 6H8. Основываясь на данных, полученных *in silico* при 3D моделировании вариабельных доменов гуманизированных антител (5D3Hu и 6H8Hu) были выбраны несколько аминокислотных остатков мышиных каркасных областей, которые сохранили в гуманизированных мАТ для предотвращения потери аффинности. Гуманизированные мАТ экспрессировали в клетках CHO. Аффинность гуманизированных мАТ измеряли на биосенсоре Attana с использованием рекомбинантного белка PRAME, полученного в *E. coli*. Значения констант диссоциации комплекса PRAME и гуманизированных мАТ составили 1.4 нМ для мАТ 5D3Hu и 1.2 нМ для мАТ 6H8Hu, что практически не отличается от значений, полученных для химерных вариантов этих антител. Гуманизированные антитела показали связывание с клеточным лизатом линии WI38, транзитивно экспрессирующей белок PRAME, а также с рекомбинантным белком PRAME в Вестерн-блоте. Была определена эпитопная специфичность антител с использованием различных фрагментов белка PRAME, слитых с тиоредоксином. Было показано, что мАТ 5D3 и 6H8 связываются с неперекрывающимися фрагментами белка PRAME. 160-180 а.о. и 180-200 а.о., соответственно.

Работа выполнялась при поддержке субсидии Министерства образования и науки Российской Федерации (уникальный идентификатор проекта RFMEFI60418X0204).

Источники и литература

- 1) Wadelin F., Fulton J., McEwan P.A., Spriggs K.A., Emsley J., and Heery D.M. (2010) Leucine-rich repeat protein PRAME: expression, potential functions and clinical implications for leukaemia. *Mol Cancer*. 9: p. 226.
- 2) Epping M.T. and Bernards R. (2006) A causal role for the human tumor antigen preferentially expressed antigen of melanoma in cancer. *Cancer Res*. 66(22): p. 10639-10642.