

Использование пептида 2А вируса ящура для продукции рекомбинантного антитела в растении

Научный руководитель – Шешукова Екатерина Владимировна

Круглов И.И.¹, Камарова К.А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра вирусологии, Москва, Россия, *E-mail: k3473568i@gmail.com*; 2 - Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН, Москва, Россия, *E-mail: kamila.kamarova@gmail.com*

Во всём мире проявляется непрекращающийся интерес к использованию растительной клетки для продукции рекомбинантных белков, а недавняя пандемия COVID-19 инициировала послабление требований к растительным аналогам терапевтических белков для допуска к доклиническим и клиническим испытаниям [1]. Ранее в нашей лаборатории была разработана система продукции в растениях *Nicotiana benthamiana* антитела, последовательность тяжелой (ТЦ) и легкой цепи (ЛЦ) которого идентична ЛЦ и ТЦ трастузумаба [2]. В основе данной технологии лежит экспрессия генов ТЦ и ЛЦ антитела при использовании двух разных векторов, одновременно доставляемых в клетку с помощью агробактерии при инфильтрации. Таким образом подразумевается экспрессия генов с разных транскрипционных кассет, что не гарантирует эквимолярное соотношение накопления ЛЦ и ТЦ в одной клетке и последующего правильного фолдинга антитела. Равного количества ЛЦ и ТЦ можно добиться, осуществив синтез процессируемого в растительной клетке полипротеина, содержащего аминокислотные последовательности ЛЦ и ТЦ. Одним из инструментов такого подхода является использование автокаталитического пептида 2А (-LLNFDLLKLAGDVESNPG-) вируса ящура, встроенного между аминокислотными последовательностями ЛЦ и ТЦ антитела [3]. Применение 2А пептида было успешно продемонстрировано на системе продукции процессируемых антител в дрожжах и животных клетках, однако, в системе растительной клетки имеются лишь считанные примеры [4].

В данной работе мы создали систему продукции процессируемого полипротеина, состоящего из ЛЦ и ТЦ, соединённых между собой пептидом 2А: генетические конструкции 35S-спЛЦ-2А-спТЦ и 35S-спТЦ-2А-спЛЦ, в которых гены, кодирующие ТЦ или ЛЦ находились в одной рамке считывания. При этом на N-конце каждой из цепей имеется сигнальный пептид (сп), направляющий белок в апопласт через эндоплазматический ретикулум и аппарат Гольджи, где происходит сборка антитела. Мы оценили содержание антител в белковых экстрактах листьев *N. benthamiana* с помощью вестерн-блот анализа и показали, что данная система применима для продукции рекомбинантного антитела в растительной клетке.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ МК-3828.2022.1.4.

Источники и литература

- 1) Khorattanakulchai N., et al. A recombinant subunit vaccine candidate produced in plants elicits neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 variants in macaques // *Frontiers in Plant Science*, 2022, Vol. 13, P. 901978.
- 2) Komarova T.V., et al. Plant-Made Trastuzumab (Herceptin) Inhibits HER2/Neu+ Cell Proliferation and Retards Tumor Growth // *PLOS ONE*, 2011, Vol. 6, No. 3, P. e17541.
- 3) Fang J., et al. Stable antibody expression at therapeutic levels using the 2A peptide // *Nature Biotechnology*, 2005, Vol. 23, No. 5, P. 584-590.

- 4) Chen L., et al. Efficient Production of a Bioactive Bevacizumab Monoclonal Antibody Using the 2A Self-cleavage Peptide in Transgenic Rice Callus // *Frontiers in Plant Science*, 2016, Vol. 7, P. 1156.