

ОПТИМИЗАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ПРЕПАРАТА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ТЯЖЕЛОГО ПСОРИАЗА НА ОСНОВЕ РЕКОМБИНАНТНОГО РЕЦЕПТОРНОГО АНТАГОНИСТА ИНТЕРЛЕЙКИНА-36 ЧЕЛОВЕКА

© 2018 г. А. А. Колобов*, Т. О. Антипова, Е. А. Протасов,
И. Н. Горбунова, А. Е. Полоцкий

*E-mail: kolobov_a@hpb-spb.com

ФГУП «Государственный научно-исследовательский институт особо чистых биопрепаратов»
Федерального медико-биологического агентства, Санкт-Петербург, Россия

Рецепторный антагонист интерлейкина-36 (ИЛ-36РА) – специфичный для кожных покровов противовоспалительный цитокин. Рекombинантный ИЛ-36РА может применяться для лечения различных дерматитов, в первую очередь, тяжелого псориаза. Сейчас препарат на его основе готов к клиническим испытаниям. Данная работа посвящена разработке оптимизированной промышленной технологии получения ИЛ-36РА. Она проще, быстрее и дешевле разработанной ранее, так как исключает ряд технологических шагов и обеспечивает выход ИЛ-36РА на 15% выше.

Ключевые слова: псориаз, цитокин, интерлейкин-36, ИЛ-36, рецепторный антагонист интерлейкина-36, ИЛ-36РА

DOI: 10.31857/S102872210002639-7

Авторы:

Колобов А. А., к.б.н., м.н.с. лаборатории иммунофармакологии ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Антипова Т. О., к.б.н., с.н.с. лаборатории биохимии белка ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Протасов Е. А., руководитель группы лаборатории биохимии белка ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Горбунова И. Н., с.н.с. лаборатории биохимии белка ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия;

Полоцкий А. Е., в.н.с. лаборатории биохимии белка ФГУП «Гос.НИИ ОЧБ» ФМБА России, Санкт-Петербург, Россия.

Введение. Рецепторный антагонист интерлейкина-36 (ИЛ-36РА) – специфичный для кожных покровов противовоспалительный цитокин. Ряд мутаций в кодирующем его гене ассоциирован с развитием генерализованного пустулезного псориаза (ГПП) [4]. Используемые сейчас для лечения ГПП препараты часто вызывают осложнения при лечении, поскольку подавляют активность цитокинов, являющихся системными регуляторами иммунитета [1–3]. Рекombинантный ИЛ-36РА может стать более специализированным препаратом для лечения ГПП и других дерматитов. Нами была разработана технология получения рекombинантного ИЛ-36РА и успешно завершены доклинические испытания его эффективности и безопасности в качестве ле-

карства для лечения псориаза. Сейчас препарат готов к клиническим испытаниям. Однако технология его получения оптимальна для применения в масштабах лаборатории или опытного производства. Для уменьшения себестоимости препарата и более простого масштабирования производства требуется доработка технологии.

Цель. Данная работа посвящена оптимизации промышленной технологии получения ИЛ-36РА – её упрощению, ускорению и удешевлению.

Материалы и методы. Ранее нами был создан штамм-продуцент безметионинового ИЛ-36РА на основе *E. coli* и разработана методика его культивирования в ферментерах объёмом до 250 л. Для очистки ИЛ-36РА была разработана методика неаффинной хроматографической очистки, которая включала в себя: лизис биомассы штамма-продуцента, инкубацию лизата 10–14 дней, его осветление, катионообменную хроматографию на сорбенте SP FF (GE, США), гидрофобную хроматографию на сорбенте Butyl-650S (Tosoh, Япония), ультрафильтрационное концентрирование очищенного ИЛ-36РА и стерилизующую фильтрацию. В процессе работы оптимизировали условия проведения некоторых из этих этапов.

Результаты. Лизис биомассы штамма-продуцента прежде осуществляли с помощью её замо-

раживания и размораживания. Теперь же метод дополнили обработкой лизоцимом, что позволило достичь большей эффективности лизиса и отбросить этап инкубации лизата. Это позволило ускорить получение ИЛ-36РА на 10–14 дней.

Условия катионообменной хроматографии на сорбенте SP FF (GE, США) были оптимизированы таким образом, что позволили увеличить разрешение при очистке ИЛ-36РА и, как следствие, выход ИЛ-36РА на этой стадии в среднем с 75% до 90%.

Условия гидрофобной хроматографии на сорбенте Butyl-650S (Tosoh, Япония) были оптимизированы таким образом, что позволили получать при элюции более концентрированный ИЛ-36РА. Это позволило отбросить стадию ультрафильтрационного концентрирования ИЛ-36РА и, таким образом, упростило технологию его получения.

Обсуждение/выводы. Разработанная методика позволяет получать в результате одного производственного цикла до 12 г очищенного ИЛ-36РА с содержанием менее 5% его формы с неотщепленным N-концевым остатком метионина. При этом по сравнению с разработанной ранее данная методика проще, быстрее и дешевле,

так как исключает ультрафильтрационное концентрирование и инкубацию лизата, а также обеспечивает выход ИЛ-36РА приблизительно на 15% выше.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ/REFERENCES

1. Garber C. Systemic Treatment of Recalcitrant Pediatric Psoriasis: A Case Series and Literature Review / C. Garber, M. Creighton-Smith, E. P. Sorensen, N. Dumont, A. B. Gottlieb // *J. Drugs Dermatol. JDD*—2015.— Т. 14—№ 8—881–886 с.
2. López-Ferrer A. The safety of ustekinumab for the treatment of psoriatic arthritis / A. López-Ferrer, A. Laiz, L. Puig // *Expert Opin. Drug Saf.*— 2017.— Т. 16— № 6—733–742s.
3. Ryoo J. Y. Meta-analysis of the Efficacy and Safety of Secukinumab for the Treatment of Plaque Psoriasis / J. Y. Ryoo, H.—J. Yang, E. Ji, B. K. Yoo // *Ann. Pharmacother.*— 2016.— Т. 50—№ 5—341–351s.
4. Setta-Kaffetzi N. Rare pathogenic variants in IL36RN underlie a spectrum of psoriasis-associated pustular phenotypes / N. Setta-Kaffetzi, A. A. Navarini, V. M. Patel, V. Pullabhatla, A. E. Pink, S.—E. Choon, M. A. Allen, A. D. Burden, C. E. M. Griffiths, M. M. B. Seyger, B. Kirby, R. C. Trembath, M. A. Simpson, C. H. Smith, F. Capon, J. N. Barker // *J. Invest. Dermatol.*— 2013.— Т. 133—№ 5—1366–1369s.

OPTIMIZATION OF PRODUCTION TECHNOLOGY OF RECOMBINANT HUMAN INTERLEUKIN-36 RECEPTOR ANTAGONIST FOR USE AS THERAPY FOR SEVERE PSORIASIS

© 2018 A. A. Kolobov*, T. O. Antipova, E. A. Protasov, I. N. Gorbunova, A. E. Polotsky

*E-mail: kolobov_a@hpb-spb.com

State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia

Interleukin-36 receptor antagonist (IL-36Ra) is an anti-inflammatory cytokine specific for skin. Recombinant IL-36Ra could be used for therapy of different dermatitis, primarily for treatment of severe psoriasis. Now the anti-psoriatic drug based on IL-36Ra is ready for clinical trials. This research is dedicated to development of optimized IL-36Ra industrial production technology. It's more simple, quicker and cheaper than the one we developed previously as it excludes several technological steps and provides 15% higher yield of IL-36Ra.

Key words: psoriasis, cytokine, interleukin-36, IL-36, interleukin-36 receptor antagonist, IL-36Ra

Authors:

Kolobov A. A., Ph.D., Junior Researcher, Laboratory of Immunopharmacology State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia, E-mail: kolobov_a@hpb-spb.com;

Antipova T. O., Ph.D., Senior Researcher, Laboratory of Protein Biochemistry State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia;

Protasov E. A., Group Leader, Laboratory of Protein Biochemistry State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia;

Gorbunova I. N., Senior Researcher, Laboratory of Protein Biochemistry State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia;

Polotsky A. E., Leading Researcher, Laboratory of Protein Biochemistry State Research Institute of Highly Pure Biopreparations, Saint Petersburg, Russia.