

Інститут біології клітини Національної
Академії Наук України

(реєстраційний номер і дата реєстрації запиту)

(підпис та ПІБ особи, яка зареєструвала запит)

ЗАПИТ на проведення науково-дослідної роботи

1. Назва роботи Розробка імунохроматографічної тест-системи на основі моноклональних антитіл для швидкої діагностики пацієнтів з черепно-мозковими травмами

2. Вид тематики (державна, програмно-цільова і конкурсна, відомча)
Програмно-цільова

3. Назва цільової програми або цільового проекту (якщо в їх рамках планується виконувати роботу)

Цільова науково-технічна програма оборонних досліджень НАН України на 2020–2024 роки

4. Назва розділу програми або напряму цільового проекту (за наявності):

5. Строки виконання роботи: 1 рік

6. Код програмної класифікації видатків: 6541230

7. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки:

5) Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

8. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок:

24. Розроблення способів та засобів захисту від біологічної зброї, отруйних і небезпечних хімічних речовин, вірусів, інфекційних захворювань та радіації. Технології тактичної медицини (термінової зупинки кровотечі у польових та стаціонарних умовах, фізіотерапія та реабілітація)».

9. Код та назва наукового напряму (проблеми) з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук:

2.2.4. Визначення молекулярних і клітинних основ розвитку хвороб людини (в першу чергу – серцево-судинних, онкологічних, нейродегенеративних і метаболічних) та розробка методів їх профілактики, діагностики і лікування





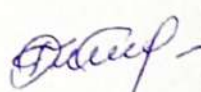
10. Науковий керівник роботи

Стасик Олег Володимирович, д.б.н., ст. д., зав. відділом сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України

(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, посада, місце роботи)

Телефон: +380322612146 Факс: +380322612108 E-mail: olehst11@gmail.com

11. Відповідальні виконавці

Прізвище, ім'я та по батькові	Науковий ступінь, посада, місце роботи, телефон, електронна адреса	Підпис
Бобак Ярослав Петрович	к.б.н., с.н.с., відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України +380679225126 bobakyaroslav@gmail.com	
Вовк Олена Іванівна	к.б.н., м.н.с. відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України +380975707635 vovkoliv@gmail.com	
Шуваєва Галина Юрївна	к.б.н., м.н.с. відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України +380501327056 shuvayeva77@gmail.com	
Демаш Дмитро Валерійович	к.б.н., м.н.с. відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України +380633712737 ddemash@gmail.com	
Стасик Олена Георгіївна	к.б.н., м.н.с. відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України +380975992535 olena.stasyk@lnu.edu.ua	

12. Установи - співвиконавці (для комплексних робіт)

Повна назва установи	Назва розділу роботи	Питома вага в загальному обсязі фінансування робіт, %
1	2	3
-	-	-

13. Ключові слова (до 7 слів)

IXA тест, черепно-мозкові травми, діагностика, моноклональні антитіла

14. Резюме

Метою роботи є розробка прототипу швидкого імунохроматографічного (IXA) тесту для оцінки ступеня важкості та ризику розвитку ускладнень у пацієнтів з черепно-мозковими травмами (ЧМТ) різної етіології, доступного для масового застосування. З цією метою лабораторні миші будуть імунізовані синтетичним білком-антигеном UCH-L1 людини, який є маркером ЧМТ, та буде отримано стабільні клони гібридом спленоцитів імунованих мишей з клітинами мієломи миші, здатні продукувати специфічні моноклональні антитіла до білка UCH-L1. Відповідні антитіла будуть очищені та охарактеризовані їх властивості. Будуть сформовані ефективні пари моноклональних антитіл як компонентів IXA тестів, а також підтверджена ефективність розробленого

прототипу на реальних зразках крові, отриманих від пацієнтів з ЧМТ. Розроблена тест-система стане першим вітчизняним ІХА тестом для діагностики ЧМТ, яка буде доступною, ефективною та зручною у використанні, і не потребуватиме додаткового спеціалізованого обладнання (напр. комп'ютерної томографії). Це значно полегшить діагностику ЧМТ, особливо за умов відсутності доступу до лабораторних досліджень, зокрема у зоні військових дій та на прифронтових територіях.

15. Обґрунтування доцільності виконання роботи (до 3 сторінок)

15.1. Цілі та завдання роботи, її актуальність, соціальна та економічна значимість

Ефективна діагностика та лікування черепно-мозкових травм (ЧМТ) залишається складною і досі не розв'язаною медичною проблемою. Вона набула стану «тихої епідемії», адже щороку у світі фіксується більше 70 млн. випадків ЧМТ, і ця кількість постійно зростає. В Україні ця проблема є особливо актуальною через значне збільшення кількості контузій, акубаротравм та струсів мозку після ракетно-артилерійських обстрілів як у військових, так і у цивільного населення.

Класичним методом діагностики ЧМТ є оцінка тяжкості стану пацієнта за шкалою коми Глазго (ШКГ), яка базується на ряді візуальних показників (зокрема, відкривання очей, мовна реакція та рухова реакція). Більш спрощеним варіантом цієї шкали, адаптованим для військових медиків та парамедиків, є шкала AVPU (реакція на голос та біль). На жаль, обидві ці шкали не надають важливої інформації про характер патологічних процесів, які протікають в головному мозку.

Відповідно до світової статистики, переважна більшість випадків ЧМТ (близько 90%) відноситься до «легких» (13-15 балів за ШКГ). В той же час, до 15% пацієнтів з легкою ЧМТ мають фізичні порушення структури головного мозку, видимі під час комп'ютерної томографії (КТ). І ці пацієнти потребують госпіталізації, лікування та посиленого моніторингу в умовах стаціонару.

Отже, важливою задачею є створення ефективних діагностичних методів здатних виокремити когорту пацієнтів з такими формами ЧМТ, які у подальшому можуть мати ускладнення і несприятливий перебіг захворювання. Відомо, що недиагностовані випадки ЧМТ та неправильно оцінена тяжкість патології призводять до занадто швидкого повернення до звичайних навантажень, результатом чого часто є розвиток хронічних нейродегенеративних захворювань у майбутньому.

Не менш важливою задачею є також виокремлення когорти пацієнтів з легкими формами ЧМТ, які не належать до груп ризику та не потребують госпіталізації та додаткових обстежень, оскільки надмірна діагностика підвищує загальну вартість лікування пацієнта, а також (у випадку КТ) піддає його організм непотрібному додатковому опроміненню. Слід також зазначити, що КТ, як діагностичний метод, часто є недоступним у «польових умовах» (зокрема - на прифронтових та деокупованих територіях).

Таким чином, в ході виконання проекту планується вперше розробити вітчизняний діагностичний тест для оцінки ризику розвитку ускладнень у пацієнтів з ЧМТ, який буде доступним, швидким та простим у застосуванні. Цей тест дозволить зменшити середню вартість лікування пацієнтів з легкою ЧМТ і позбавить більшість з них необхідності проведення непотрібних діагностичних тестів (зокрема – дозволить уникнути зайвого опромінення під час КТ). Крім того, використання таких тестів у випадку легких ЧМТ на пре-госпітальному етапі парамедиками дозволить проводити на місці первинну оцінку необхідності транспортування пацієнта у лікарню; у лікарні – дозволить оцінити необхідність КТ; у випадку спортивних травм – швидко оцінити необхідність госпіталізації та проводити оцінку ефективності реабілітації; у випадку військових дій, – швидко оцінити необхідність евакуації з поля бою.

Для досягнення цієї цілі планується отримати стабільні клітини гібридом, здатні продукувати специфічні моноклональні антитіла до білка UCH-L1 людини, як маркера

пошкодження гематоенцефалічного бар'єру, очистити та охарактеризувати ці моноклональні антитіла та використати їх для розробки прототипу швидкого імунохроматографічного тесту, зокрема у комбінації з антитілами до інших відомих біологічних маркерів тяжкості ЧМТ (білки GFAP, S100B тощо).

15.2. Стан розроблення проблеми

Активний пошук молекулярних маркерів, які б могли бути використані з метою діагностики або для прогнозу у пацієнтів з ЧМТ іде протягом багатьох років. Так у 2015 році в країнах Скандинавії було рекомендовано використовувати визначення рівня білка S100B у сироватці крові як маркера ушкодження гематоенцефалічного бар'єру для оцінки необхідності КТ у пацієнтів з легкими формами ЧМТ. Відзначається, що запровадження цього тесту дозволило знизити кількість направлень на КТ на 30-40% без втрати ефективності діагностики та суттєво зменшити середню вартість лікування для пацієнтів. На сьогодні існує декілька комерційних наборів (від компаній Roche, DiaSorin, bioMereux та інш.), які дозволяють проводити цей тест за допомогою методу імуноферментного аналізу, що висуває ряд вимог до оснащення лабораторій та відкидає можливість застосування тесту в «польових» умовах. З іншого боку, визначення білка S100B (у концентрації, більшій за 100 пкг/мл) має достатньо вузьке діагностичне вікно (до 3-4 годин після травми), після чого рівень білка у крові знижується. Крім того, встановлено, що рівень S100B у крові зростає не лише після ЧМТ, а і після переломів кісток, що може збільшувати ймовірність отримання хибно-позитивних результатів у випадку політраум.

У 2018 році Управління з санітарного нагляду за якістю харчових продуктів та медикаментів США (FDA) надало дозвіл на використання швидкого тесту для оцінки ризику розвитку ускладнень у пацієнтів з легкою ЧМТ від Vanyan Biomarkers (на даний час відповідна розробка викуплена американською компанією Abbott). Тест базується на визначенні у крові людини білків GFAP (більше 10 пкг/мл) та UCH-L1 (більше 80 пкг/мл), рівень яких збільшується при пошкодженні нейроглії, нейронів та гематоенцефалічного бар'єру. Відповідний тест має ряд суттєвих переваг: виконується протягом декількох хвилин (оскільки заснований на методі імунохроматографії), має довше діагностичне вікно (до 12 год після травми), чутливість на рівні 95.8% та значущість негативного результату на рівні 99%. Суттєвим недліком тесту однак є те, що його застосування потребує спеціальних аналізаторів, що значно знижує його доступність для медичних лабораторій та, особливо, за умов відсутності доступу до відповідно оснащених лабораторій.

UCH-L1 (Ubiquitin C-terminal Hydrolase L1) – це білок, який відповідає за деубіквітинування білків з утворенням мономерів убіквітину. Міститься виключно у нейронах і складає 1-2% загального білка клітин головного мозку. Наявність цього білка у крові свідчить про ушкодження нейронів та гематоенцефалічного бар'єру. В останні роки саме UCH-L1 вважається одним із найбільш перспективних діагностичних та прогностичних маркерів ЧМТ.

15.3. Досвід і доробок авторів (*ідеї, гіпотези, результати попередніх досліджень, які покладені в основу нової наукової роботи, вказати також основні публікації авторського колективу за проблематикою роботи за останні 5 років*).

Співробітники відділу сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України мають значний досвід у використанні «гібридної технології» для отримання стабільних продуцентів специфічних моноклональних антитіл до антигенів різної природи, характеристикації цих антитіл та їх використання для розробки імунохроматографічних тестів. Зокрема отримані у відділі моноклональні антитіла були використані у наступних наукових працях:

1. Karatsai O, Shliaha P, Jensen ON, **Stasyk O**, Rędowicz MJ. Combinatory Treatment of Canavanine and Arginine Deprivation Efficiently Targets Human Glioblastoma Cells via Pleiotropic

- Mechanisms. **Cells**. 2020, 9(10):2217. doi: 10.3390/cells9102217. (IF – 4.36).
2. Chen O, Manig F, Lehmann L, Sorour N, Löck S, Yu Z, Dubrovskaya A, Baumann M, Kessler BM, **Stasyk O**, Kunz-Schughart LA. Dual role of ER stress in response to metabolic co-targeting and radiosensitivity in head and neck cancer cells. **Cellular and Molecular Life Sciences**. 2021. 78(6):3021-3044. doi: 10.1007/s00018-020-03704-7. (IF – 6.50).
 3. Shuvayeva GY, Bobak YP, Vovk OI, **Stasyk OV**. Isolation of monoclonal antibodies against nucleocapsid N-protein of SARS-CoV2 virus as a component of immunochromatographic tests. **Cell Biology International**. 2022 (in preparation).

15.4. Структура досліджень

Проект буде містити три взаємопов'язаних між собою етапи:

Етап 1. Селекція стабільних клітин гібридом миші, здатних продукувати специфічні моноклональні антитіла до білка-антигена UCH-L1

Для продукування мкАТ проти білка-антигена UCH-L1 буде використана так звана «технологія гібридом», яка є добре освоєною групою виконавців проекту. Для цього самці лабораторних мишей лінії BALB/c віком 2-3 місяці будуть імунізовані інтраперитонеально у трьох повторах з інтервалами у місяць виділеними та очищеними препаратами синтетичного білка UCH-L1 людини, чи його фрагментів. У випадку повторного підтвердження високого титру антитіл методом імуноферментного аналізу (ІФА) (на рівні 10^{-5} - 10^{-6}), спленоцити тварин буде виділено та злито *in vitro* з клітинами мишачої мієломи Sp1 для формування гібридом, а також їх селекції у середовищі НАТ (huroxanthine-aminopterin-thymidine). Через 2 тижні після процедури гібридизації методом ІФА буде проведено первинний скринінг щодо присутності антитіл до використаного для імунізації антигена. Такий аналіз буде повторено декілька разів впродовж росту відповідних клонів на селективних та неселективних середовищах з метою відбору високостабільних клонів. Клітини, що в кінцевому результаті виявляють позитивну відповідь на антиген (тобто стабільно секретують відповідні антитіла) буде реклоновано двічі шляхом лімітуючих розведень.

Етап 2. Очищення антитіл та характеристика їх властивостей:

Специфічні щодо білка UCH-L1 моноклональні антитіла будуть очищені з культурального середовища або з асцитної рідини лабораторних мишей. За допомогою методу ІФА буде проведено перехресний аналіз моноклональних антитіл та визначення їх епітопної специфічності. Гібридами, які успішно пройшли усі етапи відбору та перевірок, будуть зберігатися замороженими у рідкому азоті.

Етап 3. Створення прототипу імунохроматографічного (ІХА) тесту для діагностики ЧМТ:

В рамках етапу буде проведено порівняльний аналіз виділених мкАТ на їх здатність розпізнавати білок UCH-L1 (за допомогою методу імуноферментного аналізу). Антитіла, що виявлятимуть необхідні характеристики, будуть перевірені як компоненти лабораторних пілотних ІХА тестів на реальних зразках крові, отриманих від пацієнтів з ЧМТ.

15.5. Наявність матеріально-технічної бази для виконання роботи.

Відділ сигнальних механізмів клітини Інституту біології клітини НАН України володіє усіма необхідними приладами та технічним забезпеченням для виконання запланованих у цьому проекті досліджень по ізолюванню мкАТ та їх аналізу. Вони включають віварій для лабораторних тварин (мишей лінії BALB/c), бокс для культуральної роботи, обладнаний термостатованим CO₂ інкубатором «NuAire», ламінарним боксом «ESCO», обширну колекцію модельних клітин, що включає мієломи мишей, що використовуються для отримання гібридом, інвертований мікроскоп «ЛОМО», низькотемпературний холодильник «NuAire» для довготривалого зберігання біологічних матеріалів. Крім цього

відділ володіє швидкісною центрифугою «Eppendorf», PCR машиною «Clever Scientific TC48/96», системами «Thermo Fisher Scientific» для електрофорезу ДНК, РНК та білків, спектрофотометрами для аналітичних досліджень «NanoDrop» та «BioTek», центрифугами T-23, ОРn-3 та іншим лабораторним обладнанням.

Слід однак зазначити, що деякі із зазначених приладів працюють на межі функціонального ресурсу. Тому, у рамках проекту планується придбання окремих сучасних приладів, критично необхідних для успішного виконання досліджень.

16. Техніко-економічне обґрунтування (для прикладних науково-технічних розробок)

В результаті проведення дослідження буде створено прототип швидкого ІХА тесту на основі моноклональних антитіл проти білка UCH-L1, або комбінацій з антитілами до інших білків (GFAP, S100B тощо) для оцінки ризику розвитку ускладнень у пацієнтів з ЧМТ. Даний тест має бути швидким у виконанні (протягом декількох хвилин) та не потребувати додаткового обладнання, забезпечуючи при цьому необхідний рівень чутливості та специфічності при тестуванні впродовж 24 годин після травми.

17. Власна оцінка науково-технічного рівня розробки, яка очікується за результатами наукової, науково-технічної роботи (потрібно зазначити):

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> | немає аналогів у світі або краща за існуючі у світі аналоги |
| <input type="checkbox"/> | немає аналогів в Україні |
| <input type="checkbox"/> | краща за існуючі в Україні аналоги за всіма основними показниками |
| <input type="checkbox"/> | перевищує існуючі в Україні аналогічні розробки за окремими показниками |

18. Використання результатів роботи

18.1. Очікувані наукові та науково-практичні результати, об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), які плануються до впровадження після завершення роботи

Найменування результатів, ОІВ	Назва підприємства, організації, де передбачається використовувати результати, ОІВ	Заплановані обсяги впровадження
Патент України на винахід	Військово-медичний клінічний центр Західного регіону	Включення до протоколів діагностики ЧМТ

18.2. Шляхи та способи подальшого використання в суспільній практиці результатів виконання роботи

Розроблені в результаті виконання роботи швидкі ІХА тести можуть в майбутньому використовуватись для швидкої оцінки ризику ускладнень у пацієнтів з ЧМТ на різних етапах медичної допомоги: у приймальних відділеннях лікарень, кабінетах сімейних лікарів, фельдшерських пунктах, бригадами швидкої допомоги тощо, а також військовими медиками в польових умовах для оцінки необхідності та пріоритетності евакуації поранених з поля бою. Застосування тестів дозволить покращити якість діагностики і знизити середню вартість лікування для цивільного населення, а також покращить діагностику військових в польових умовах. Відповідні тести також можуть

застосовуватись для діагностики ЧМТ для травматичних видів спорту (бокс, боротьба, регбі тощо)

18.3. Потенційні споживачі наукових та науково-технічних результатів, об'єктів права інтелектуальної власності (ОІВ)

Країна	Назва підприємства, організації	Найменування результатів, ОІВ	Можливі обсяги споживання
Україна	Військові та польові госпіталі, цивільні медичні заклади (травмпункти), амбулаторії, діагностичні центри тощо	Швидкі імунохроматографічні (ІХА) тести для діагностики черепно-мозкових травм	Десятки тисяч тест систем щорічно

19. Об'єкти права інтелектуальної власності (ОІВ), використання яких передбачається під час проведення досліджень (для прикладних досліджень та фундаментальних, де використовуються ОІВ)

<i>Реєстраційний номер патенту, свідоцтва, країна (для ОІВ, набуття прав на які засвідчується охоронним документом)</i>	<i>Назва необхідного патенту, ноу-хау, об'єкта авторського права та інших ОІВ</i>	<i>Творець ОІВ</i>	<i>Вид наявних прав (виключні майнові права, виключна, невиключна, проста ліцензія) чи є потреба в одержанні прав на використання</i>
-	-	-	-

20. Фінансові аспекти роботи

20.1. Загальна вартість роботи 1955 тис. грн.
словами: один мільйон дев'ятсот п'ятдесят п'ять тис. грн.

20.2. Вартість роботи по роках:

Роки виконання роботи	2023 р.
Вартість виконання робіт (тис. грн.)	1955

21. Наукові ради (комітети, комісії) НАН України, ради регіональних наукових центрів НАН і МОН України, яких доцільно залучити до експертної оцінки запиту Наукова рада з проблем «Біохімія» та «Молекулярна біологія»

22. Кандидатури можливих експертів у галузі, до якої відноситься робота, що пропонується

Прізвище, ім'я, по батькові	Науковий ступінь, посада	Місце роботи
Філоненко Валерій Вікторович	Доктор біол. наук, зав.	Інститут молекулярної

	Відділом сигнальних систем клітини	біології та генетики НАН України
--	------------------------------------	----------------------------------

23. Додатки, що є невід'ємною частиною запиту на відкриття роботи за програмно-цільовою і конкурсною тематикою:

1. Технічне завдання на виконання роботи (Додаток А).
2. Планова калькуляція кошторисної вартості роботи (Додаток Б).

15.11.2022р.

дата

Керівник установи

Директор

Інституту біології клітини НАН України

Академік НАН України


(підпис)

А.А. Сибірний

25255758

М.П.

Науковий керівник роботи

Зав. відділом сигнальних механізмів клітини

Інституту біології клітини НАН України

Д.б.н. ст. д. Стасик О.В.


(підпис)

Стасик О.В.

ПОГОДЖЕНО

Директор
Інституту біології клітини НАН України
Академік НАН України

А.А. Сибіренко
А.А. Сибіренко
« 15 » листопада 20 22 р.
М.П.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Національна академія наук України

Перший віце-президент НАН України
академік НАН України

В.П. Горбулін
(підпис)
« _____ » _____ 20__ р.
М.П.

ТЕХНІЧНЕ ЗАВДАННЯ

на виконання науково-дослідної роботи

«Розробка імунохроматографічної тест-системи на основі моноклональних антитіл
для швидкої діагностики пацієнтів з черепно-мозковими травмами» в рамках
цільової науково-технічної програми оборонних досліджень НАН України на 2020–2024
роки

1. Рішення про затвердження роботи

Запит на виконання роботи схвалено на засіданні Вченої Ради Інституту біології клітини НАН України від 15 листопада 2022 року (Протокол №10)

2. Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки

5) Науки про життя, нові технології профілактики та лікування найпоширеніших захворювань

3. Пріоритетний тематичний напрям наукових досліджень і науково-технічних розробок

24. Розроблення способів та засобів захисту від біологічної зброї, отруйних і небезпечних хімічних речовин, вірусів, інфекційних захворювань та радіації. Технології тактичної медицини (термінової зупинки кровотечі у польових та стаціонарних умовах, фізіотерапія та реабілітація)».

4. Код та назва наукового напрямку або проблеми з Основних наукових напрямів та найважливіших проблем фундаментальних досліджень у галузі природничих, технічних і гуманітарних наук (для фундаментальних досліджень)

2.2.4. Визначення молекулярних і клітинних основ розвитку хвороб людини (в першу чергу – серцево-судинних, онкологічних, нейродегенеративних і метаболічних) та розробка методів їх профілактики, діагностики і лікування

5. Основний напрям наукової діяльності установи, за яким проводяться роботи

Дослідження молекулярних механізмів регуляції проліферації, диференціації та апоптозу у нормальних та пухлинних клітин тварин і людини

6. Мета роботи

Розробка прототипу швидкого ІХА тесту для діагностики ЧМТ та оцінки ризику розвитку ускладнень у пацієнтів з ЧМТ, доступного для масового застосування.

7. Термін проведення роботи: початок – 01 січня 2023 року закінчення – 31 грудня 2023 року

Орієнтовний обсяг коштів на виконання роботи в цілому 1955 тис. грн. та по роках:
2023 р. - 1995 тис. грн.

8. Календарний план роботи (для комплексних робіт - також по розділах роботи)

№ п/п	Найменування основного етапу роботи	Термін виконання початок - закінчення (місяць, рік)	Відповідальний виконавець
1	Селекція стабільних клітин гібридом, здатних продукувати специфічні моноклональні антитіла до білка UCH-L1	Січень 2023 – Червень 2023	. . .
2	Очистка антитіл та характеристика їх властивостей	Липень 2023 – Вересень 2023

3	Створення прототипу імунохроматографічного (ІХА) тесту для діагностики ЧМТ	Жовтень 2023 – Грудень 2023
---	----------------------------------------------------------------------------	--------------------------------	-----------

9. Зміст, основні вимоги до виконання роботи, рівня і способів її виконання

Розробка прототипу швидкого імунохроматографічного (ІХА) тесту для діагностики (оцінки ступеня важкості) та ризику розвитку ускладнень у пацієнтів з черепно-мозковими травмами (ЧМТ) різної етіології потребує отримання продуцента високоселективних моноклональних антитіл проти білка UCH-L1, який обрано як перспективний діагностичний білковий маркер крові. Для цього буде використана так звана «технологія гібридом», яка є добре освоєною групою виконавців проєкту. Зокрема, самці лабораторних мишей лінії BALB/c будуть імунізовані інтраперитонально у трьох повторах з інтервалами у місяць препаратами синтетичного білка UCH-L1 людини, чи його фрагментів.

У випадку повторного підтвердження високого титру антитіл методом імуноферментного аналізу (ІФА) (на рівні 10^5 - 10^6), спленоцити тварин буде виділено та злито *in vitro* з клітинами мишачої мієломи SpI для формування гібридом, а також їх селекції у середовищі НАТ (hypoxanthine-aminopterin-thymidine). Через 2 тижні після процедури гібридизації методом ІФА буде проведено первинний скринінг щодо присутності антитіл до використаного для імунізації антигена. Такий аналіз буде повторено декілька разів впродовж росту відповідних клонів на селективних та неселективних середовищах з метою відбору високостабільних клонів. Клітини, що в кінцевому результаті виявлять позитивну відповідь на антиген (тобто стабільно секретують відповідні антитіла) буде реклоновано двічі шляхом лімітуючих розведень.

Специфічні щодо білка UCH-L1 моноклональні антитіла будуть очищені з культурального середовища або з асцитної рідини лабораторних мишей. За допомогою методу ІФА буде проведено перехресний аналіз моноклональних антитіл та визначення їх епітопної специфічності. Гібридами, які успішно пройшли усі етапи відбору та перевірок, будуть зберігатися замороженими у рідкому азоті.

В рамках етапу буде проведено порівняльний аналіз виділених мкАТ на їх здатність розпізнавати білок UCH-L1 (за допомогою методу імуноферментного аналізу). Антитіла, що виявлятимуть необхідні характеристики, будуть перевірені як компоненти лабораторних пілотних ІХА тестів на реальних зразках крові, отриманих від пацієнтів з ЧМТ різної етіології.

10. Наукові (науково-технічні) результати, що очікуються за основними етапами та роботою в цілому

По завершенні виконання проєкту очікується отримати продуценти селективних моноклональних антитіл проти білка UCH-L1 людини та прототип швидкого

імунохроматографічного тесту для визначення індивідуального білка UCH-L1, або у комбінації з антитілами до інших білків (GFAP, S100B тощо) для діагностики ступеня ушкоджень та оцінки ризику розвитку ускладнень у пацієнтів з ЧМТ, доступного для масового застосування за відсутності доступу до спеціалізованого діагностичного обладнання.

11. Перелік науково-технічної та іншої документації, що надається по завершенню роботи
Звіт, наукові публікації, патенти

Науковий керівник роботи

Зав. відділом сигнальних
механізмів клітини
Інституту біології клітини НАН
України

Д.б.н. ст. д. Стасик О.В.



(підпис)

Планова калькуляція кошторисної вартості наукової роботи
«Розробка імунохроматографічної тест-системи на основі моноклональних антитіл
для швидкої діагностики пацієнтів з легкою черепно-мозковою травмою»

Термін виконання роботи: початок — 01.01.2023 р., закінчення — 31.12.2023 р.

№ з/п	Найменування статей витрат *	КЕКВ	Сума, тис. грн.
1.	Заробітна плата	2111	250,000
2.	Нарахування на оплату праці	2120	55,000
3.	Предмети, матеріали, обладнання та інвентар	2210	263,000
4.	Медикаменти та перев'язувальні матеріали	2220	100,000
5.	Оплата послуг (крім комунальних)	2240	-
6.	Видатки на відрядження	2250	5,000
7.	Оплата теплопостачання	2271	-
8.	Оплата водопостачання та водовідведення	2272	50,000
9.	Оплата електроенергії	2273	250,000
10.	Оплата природного газу	2274	200,000
11.	Оплата інших енергоносіїв	2275	-
12.	Дослідження і розробки, окремі заходи з реалізації державних (регіональних) програм	2281	-
13.	Інші поточні видатки	2800	-
14.	Придбання обладнання і предметів довгострокового користування	3110	391,000
15.	Капітальний ремонт інших об'єктів	3132	-
16.	Реконструкція та реставрація інших об'єктів	3142	-
17.	Реставрація пам'яток культури, історії та архітектури	3143	-
Разом:			1955,000
в т.ч. накладні витрати			391,000
% їх до основної заробітної плати			20

УСТАНОВА-ВИКОНАВЕЦЬ:

Директор

Інституту біології клітини НАН України

Академік НАН України

А.А. Сибірій
М.П.

Науковий керівник роботи

С.В. Стасик
(підпис)

Головний бухгалтер

Демкович М.С.

(підпис)