

## Konstrukcja i ekspresja wybranego rekombinowanego ludzkiego przeciwciała monoklonalnego w bakteriach *Escherichia coli*

### OPIS TECHNOLOGII

Przedmiotem Technologii jest opracowanie technologii produkcji rekombinowanego fragmentu (scFv) przeciwciała monoklonalnego anty-CD22 (leku biopodobnego) w oparciu o prokariotyczny system ekspresyjny *E. coli*. Uzyskanie ekspresji aktywnego białka rekombinowanego pozwoli na wykorzystanie fragmentu Ab jako charakterystycznego nośnika czynników terapeutycznych czy wektorów rekombinowanych stosowanych w terapii genowej. Wytworzony rezultat projektu będzie przeznaczony dla pacjentów onkologicznych oraz laboratoriów diagnostycznych, jako alternatywna tańsza metoda produkcji przeciwciał monoklonalnych do terapii antynowotworowych.

### PODSTAWOWE DANE

- ✓ BRANŻA: farmaceutyczna (biofarmaceutyki – leki biopodobne)
- ✓ WŁASNOŚĆ: Łukasiewicz – Instytut Chemii Przemysłowej (Łukasiewicz – IChP) 100%
- ✓ POZIOM GOTOWOŚCI WG TRL: 4
- ✓ ŹRÓDŁO FINANSOWANIA/ROK: środki własne 2019
- ✓ SZACUNKOWY CZAS DO WDROŻENIA: 3-5 lat

### ZASTOSOWANIE

Najmniejszym fragmentem przeciwciała, które zachowuje powinowactwo i specyficzność do przeciwciała macierzystego, jest scFv (single-chain variable region fragment antibody). Takie minimalne przeciwciała mają wiele zalet w terapii i diagnostyce ze względu na mały rozmiar i łatwość w produkcji masowej. W porównaniu z przeciwciałami monoklonalnymi *in vivo*, scFv są szybciej uwalniane z krwi i przenikają tkanki szybko i równomiernie. Antygen CD22 jest jednym z antygenów powierzchniowych, które zostały wytypowane w terapii przeciwciałami przeciwko nowotworom oraz niektórym chorobom autoimmunologicznym. Antygen CD22 po połączeniu z przeciwciałem anty-CD22 jest natychmiast wchłaniany do wnętrza komórki, co umożliwia szybki transport substancji diagnostycznych i terapeutycznych skoniugowanych z tym przeciwciałem. Wytworzony rezultat projektu będzie przeznaczony dla firm farmaceutycznych czy ośrodków badawczych, jako alternatywna tańsza metoda produkcji przeciwciał monoklonalnych. Obecnie wysokie koszty terapii przeciwciałami monoklonalnymi ograniczają dostępność ich stosowania w szerszym zakresie.

## Konstrukcja i ekspresja wybranego rekombinowanego ludzkiego przeciwciała monoklonalnego w bakteriach *Escherichia coli*

### PRZEBIEG PROCESU

Proces otrzymywania rekombinowanych przeciwciał monoklonalnych można podzielić na kilka etapów. W Łukasiewicz – IChP przeprowadzono:

- ✓ Zaprojektowanie i skonstruowanie genu rekombinowanego ludzkiego przeciwciała monoklonalnego scFv CD22 w wektorze ekspresyjnym pIBA.
- ✓ Otrzymanie szczepu bakteryjnego *E. coli* IBA, transformowanego plazmidem pIBA z wklonowanym rekombinowanym genem kodującym białko scFv CD22.
- ✓ Uzyskanie ekspresji genu kodującego białko anty-CD22.
- ✓ Opracowanie metody rozpuszczania, oczyszczania i renaturacji białka na skalę laboratoryjną, podjęto próbę powiększenia skali do ćwierć-technicznej.
- ✓ Potwierdzenie mapy peptydowej uzyskanego białka anty-CD22 metodą spektrometrii mas.
- ✓ Potwierdzenie aktywności przeciwciał rekombinowanych scFv anty-CD22 na liniach komórkowych Daudi i Raji.
- ✓ Planuje się ewentualne wykorzystanie otrzymanego fragmentu przeciwciała jako nośnika cząsteczek terapeutycznych.

### KONKURENCYJNOŚĆ

Wytworzony rezultat projektu będzie przeznaczony dla pacjentów onkologicznych oraz laboratoriów diagnostycznych, jako alternatywna tańsza metoda produkcji przeciwciał monoklonalnych do terapii antynowotworowych, jako nośnik cząsteczek terapeutycznych np. egzotoksyny A z *Pseudomonas*, peptydów, radioizotopów czy wektorów rekombinowanych stosowanych w terapii genowej oraz w diagnostyce. Obecnie wysokie koszty terapii przeciwciałami monoklonalnymi ograniczają dostępność ich stosowania w szerszym zakresie.

### RYNEK/REFERENCJE

Aktualnie w USA i Europie zarejestrowanych jest około 30 terapeutycznych przeciwciał, 160 dopuszczono do badań klinicznych. Rynek przeciwciał monoklonalnych jest szacowany na setki miliardów dolarów. Większość produktów testowanych w badaniach klinicznych to całe przeciwciała wytwarzane w komórkach ssaczy. Obecnie w produkcji biofarmaceutyków na skalę przemysłową duży nacisk kładzie się na technologie, które nie wykorzystują produktów pochodzenia zwierzęcego. Dlatego też bakteryjne systemy ekspresyjne pozostają potencjalnie najlepszym wyborem do produkcji białek rekombinowanych w dużych ilościach, znajdującym szerokie zastosowanie zarówno w przemyśle, jak i w naukowych ośrodkach badawczych. Preparaty te odpowiadają na potrzeby nowoczesnej medycyny i stanowią cenne, nowe opcje terapeutyczne w leczeniu wielu chorób cywilizacyjnych, zwiększaniu komfortu życia pacjentów i ograniczaniu ubocznych efektów wielu chorób.