

## **Produkcja, oczyszczanie i analiza potencjału przeciwnowotworowego przeciwciał bispecyficznych ROR-1 x PD-L1 i Mezetelina x PD-L1.**

**mgr Jan Barczyński**

Choroby nowotworowe są jedną z wiodących przyczyn zgonów w krajach rozwiniętych. Od wielu lat jedną z najbardziej obiecujących form walki z nowotworami jest immunoterapia. Niestety, pomimo jej niezwykle dynamicznego rozwoju wciąż istnieje duża grupa nowotworów które są odporne na ten rodzaj terapii. ROR-1 i Mezetelina są białkami, których obecność w zdrowych tkankach dorosłych ludzi jest bardzo niewielka, natomiast podlegają wysokiej nadekspresji w wielu różnych typach nowotworów gdzie są zaangażowane między innymi w proliferację i przeżywalność. Ponadto w dużej liczbie przypadków ich obecność na powierzchni komórek nowotworowych została skorelowana z gorszymi prognozami dla pacjentów. PD-L1 z kolei jest jednym z najlepiej opisanych punktów kontroli układu odpornościowego. Receptor ten został zidentyfikowany jako źródło ucieczki przed kontrolą układu immunologicznego dla wielu rodzajów nowotworów. Celem projektu była produkcja i analiza potencjału przeciwnowotworowego zestawu symetrycznych przeciwciał bispecyficznych : ROR-1 x PD-L1 i Mezetelina x PD-L1 w formatach IgG1 i IgG4. Przeciwciała uzyskano z dwóch systemów ekspresji w komórkach ssaczy: produkcji przejściowej w komórkach HEK293 i stabilnych linii komórkowych CHO. Otrzymane przeciwciała bispecyficzne posiadały zgodne z oczekiwanymi parametry fizyko-chemiczne i wykazywały zdolność wiązania celów molekularnych oraz blokady interakcji PD-1/PD-L1 ze zbliżoną siłą jak referencyjne przeciwciała monospecyficzne. Dodanie badanych przeciwciał do ko-kultury komórek PBMC z komórkami nowotworowymi (linii Panc1, Panc 05.04, BT20 i RL95-2) prowadziło do istotnie zwiększonej lizy komórek nowotworowych względem analogicznych kombinacji przeciwciał monospecyficznych, a poziom tej lizy zależny był od stężenia przeciwciał. Ponadto w ko-kulturach z komórkami Panc1 i RL95-2 zaobserwowano znacząco podniesiony poziom cytokin (IL-10, TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , Granzym B) oraz zmniejszenie wielkości subpopulacji limfocytów T regulatorowych (CD4 $^{+}$  CD25 $^{+}$  CD127 $^{low}$  FoxP3 $^{hi}$  oraz CD4 $^{+}$  FoxP3 $^{+}$ ). Przeciwciała Mezetelina x PD-L1 promowały skuteczniejszą odpowiedź przeciwnowotworową niż przeciwciała ROR-1 x PD-L1. Przeciwciała klasy IgG1 wykazywały nieznacznie wyższą aktywność od przeciwciał klasy IgG4. Podsumowując, zastosowanie przeciwciał bispecyficznych do jednoczesnej blokady receptorów ROR-1 i PD-L1 lub Mezeteliny i PD-L1 jest nowatorskim i obiecującym podejściem do terapii nowotworów. Niewątpliwie jednak, koniecznym jest potwierdzenie ich skuteczności w bardziej skomplikowanych modelach, w szczególności in vivo.