

BIO.09 - Expressão de um anticorpo monoclonal anti-PD-1 bioessimililar ao Nivolumab

Michael Bernardes Ramos^{1*}; Ana Paula Dinis Ano Bom¹; Anna Erika Vieira de Araujo¹; Aline de Almeida Oliveira¹; Patrícia Cristina da Costa Neves¹; Haroldo Cid da Silva Junior¹.

¹Fiocruz/Bio-Manguinhos.

Introdução:

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o câncer representa a segunda causa de mortalidade na população mundial. No Brasil, as doenças neoplásicas estão entre as três principais causas de morte, com estimativa de 600.000 novos casos por ano, para o biênio 2018-2019. O sistema imunológico desempenha um papel importante no controle e na erradicação do câncer. Entretanto, no cenário de malignidade, diversos mecanismos de supressão imunológica podem estar presentes, reduzindo a imunidade antitumoral do hospedeiro. Desta forma, a terapia com anticorpos dirigidos contra *checkpoints* imunológicos, como a via de morte celular programada 1 (PD-1), tem mostrado sucesso na reversão do quadro de imunossupressão. Os bioessimilares são medicamentos biológicos que apresentam o mesmo perfil de segurança e eficácia dos medicamentos de referência já licenciados. A substituição de produtos biológicos de referência por bioessimilares pode aumentar o acesso dos pacientes a estes medicamentos bem como reduzir os gastos públicos com saúde.

Objetivo:

Expressar um anticorpo monoclonal anti-PD-1 bioessimililar ao Nivolumab (OPDIVO[™]).

Metodologia:

As sequências nucleotídicas dos genes de cadeia leve e cadeia pesada do anticorpo anti-PD-1 foram obtidas a partir da patente do Nivolumab (US2013173223) e sintetizadas pela empresa IDT DNA Technologies. Em seguida, os genes foram clonados no vetor de expressão pCI-neo. As construções obtidas foram sequenciadas e utilizadas para transfectar células de mamífero Expi293F. A expressão do anticorpo anti-PD1 foi avaliada por ELISA e SDS-PAGE. Então, realizou-se a purificação do anticorpo por cromatografia de afinidade utilizan-

do-se proteína A imobilizada em fase sólida. Por fim, foi realizado um novo ensaio de Elisa para avaliar se o anticorpo se ligava ao receptor PD-1.

Resultado:

Foram obtidos 6 clones contendo o gene de cadeia leve e 5 clones com o gene de cadeia pesada. Após o sequenciamento destas construções, os clones 4 (cadeia leve) e 1 (cadeia pesada) foram selecionados para a etapa de transfecção. O anticorpo anti-PD-1 foi detectado no sobrenadante de células Expi293F na concentração de 50 µg/mL. A análise do sobrenadante por SDS-PAGE, sob condições redutoras, permitiu a visualização de bandas de aproximadamente 25kDa e 50kDa, correspondentes às cadeias leve e pesada do anticorpo, respectivamente. Já em condições não-redutoras, verificou-se a presença de uma banda com massa molecular de aproximadamente 150kDa, correspondente ao esperado para uma IgG4. Após a etapa de purificação, o anticorpo anti-PD-1 apresentou alto grau de homogeneidade e mostrou perfil eletroforético similar ao Nivolumab. O rendimento final de anticorpo purificado foi de 20 mg por litro de cultura transfectada. Observou-se que o anti PD-1 se liga ao receptor PD-1.

Conclusão:

Estes resultados demonstram que foi possível obter o anticorpo anti-PD-1 a partir de células de mamífero Expi293F. Ensaios de caracterização físico-química e atividade biológica serão realizados para garantir a bioessimilaridade do anticorpo anti-PD-1 ao Nivolumab.

Palavras-chave: Anticorpo anti-PD-1; bioessimililar; nivolumab