COMT
Centro di Oncologia Molecolare e Traslazionale
UNIVERSITÀ DI PARMA

"Reversed Immuno Glycoproteomics" per la creazione di agenti immunoterapici specifici per cellule tumorali

Il sistema permette di creare nuovi agenti immunoterapici con potenziale utilizzo teranostico, caratterizzati da un'elevata selettività per cellule tumorali bersaglio, ma sfruttabile anche per altri fenotipi cellulari con proprietà di membrane distinguibili da altri elementi cellulari di riferimento. Tali agenti, non ottenibili tramite altri approcci di produzione, sono creati nella forma di anticorpi monoclonali diretti contro determinate strutture molecolari di origine post-traduzionale presenti su componenti della superficie cellulare. Il sistema si avvale di marcature biochimiche di residui carboidratici associati a componenti della membrana plasmatica delle cellule tumorali. Sussegue un arricchimento e una separazione cromatografica delle molecole marcate da sottoporre ad analisi proteomiche e glicomiche mediante spettrometria di massa e successivamente impiegare quali immunogeni per la produzione di specifici anticorpi monoclonali nel topo o nel ratto, secondo la tecnologia degli ibridomi (tecnologia di Koehler e Milstein).

Laboratorio	COMT
Area di specializzazione	Salute e Benessere
Referenti	Roberto PERRIS
Keyword	Anticorpi monoclonali, Immunoterapia e diagnostica per immagini, Proteomica/glicomica, Agenti teranostici

"Potenziamento e innovazione nell'immuno-targeting tumorale"

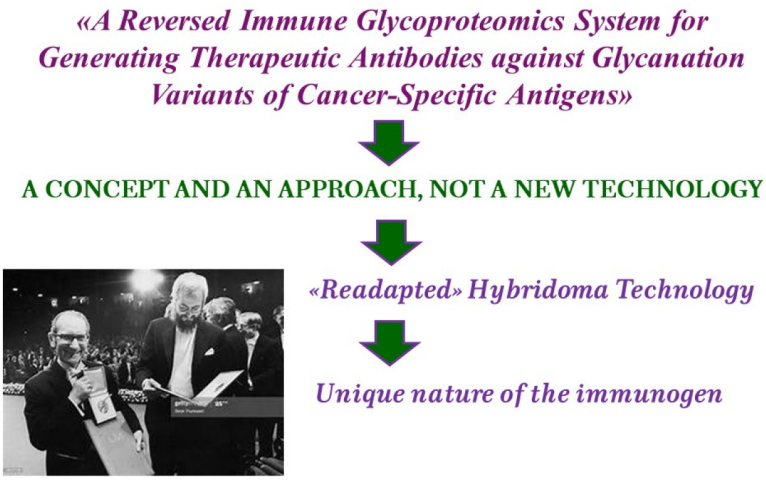


Fig. 1: Elementi chiave del sistema di Reversed Immune Glycoproteomics e un elogio agli inventori della tecnologia degli ibridomi il giorno della loro premiazione Nobel (11-12-1984)

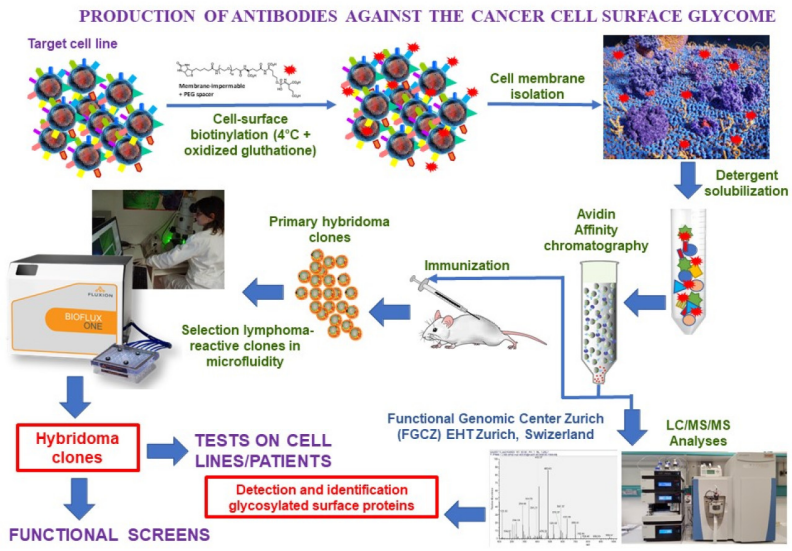


Fig. 2: Esemplificazione schematizzata delle varie fasi del procedimento secondo il metodo di Reversed Glycoproteomics, basato in questo caso su biotinilizzazioni e l'interazioni biotina-avidina

Descrizione

Il sistema, denominato "Reversed Immune glycoproteomics", sfrutta il selettivo isolamento di isoforme proteiche presenti sulla superficie delle cellule di interesse, con particolare riferimento a quelle espresse da cellule tumorali e constituenti potenziali bersagli terapeutici e teranostici. Questo è ottenuto mediante procedure di marcatura differenziale di componenti associati alla membrana plasmatica (transmembrana o ancorate mediante strutture glicolipidiche) che risultano altamente glicosilati', ove il metodo di marcatura si basa sulla reazione "biotina-avidina" e/o la "Click-it labeling technology".
Tramite apposite procedure di separazione cromatografica è possibile arricchire e separare i composti marcati che da un lato possono essere sottoposti ad analisi proteomiche e glicomiche d'avanguardia per identificare le singole molecole contenute nei complessi proteici separati e dall'altro sottoposte a determinazione della loro composizione molecolare. Parallelamente i complessi molecolari nella loro forma composita o a seguito di ulteriori separazioni fungono da immunogeni per la produzione di anticorpi monoclonali tramite la creazione di ibridomi murini e di ratto utilizzando la convenzionale tecnologia di Koehler e Milstein e la selezione dei cloni di interesse tramite procedure di screening che coinvolgono sia i complessi proteici inizialmente isolati sia cellule bersaglio d'interesse.

Aspetti innovativi

E' stato evidenziato come la complessità del proteoma umano aumenti esponenzialmente se si considera in partenza un genoma di circa 30,000-35,000 geni che a seguito di meccanismi di splicing alternativo genera circa 100.000 trascritti che si traducono in oltre un milione di isoforme proteiche grazie ai processamenti post-traduzionali. E' ampiamente documentato che cellule tumorali attivano processi di modifica post-traduzionale di proteine, le quali sono spesso prodotte in quantità maggiorate e con l'apporto di peculiari caratteristiche molecolari scarsamente presenti, o totalmente assenti su cellule sane. Pertanto, isoforme proteiche caratterizzate da peculiari glicosilazioni tumore-specifico costituiscono bersagli inediti per approcci di immunoterapia attiva o adottiva, nonchè approcci di diagnosi per immagine non-invasiva che si basa su anticorpi marcati quali sonde.
Il sistema di "Reversed Immune Glycoproteomics" rappresenta uno strumento innovativo per generare anticorpi monoclonali di alta selettività e specificità tumorale, non ottenibili tramite analoghi approcci di produzione di anticorpi su base molecolare, ingegneria genetica e l'impiego di librerie fagiche.

Applicazioni

Il sistema Reversed Immune Glycoproteomics fornisce un'opportunità per creare nuovi anticorpi anti-tumorali unici e specifici per la cellula tumorale bersaglio. Il sistema è una tecnologia del "drug development" particolarmente idonea per lo sviluppo di agenti immunoterapici e teranostici. Il sistema anche se specifico per l'oncologia sperimentale e farmaceutica, può essere riadattato per lo sviluppo di farmaci anticorpali mirati per la terapia di molteplici patologie non oncologiche.

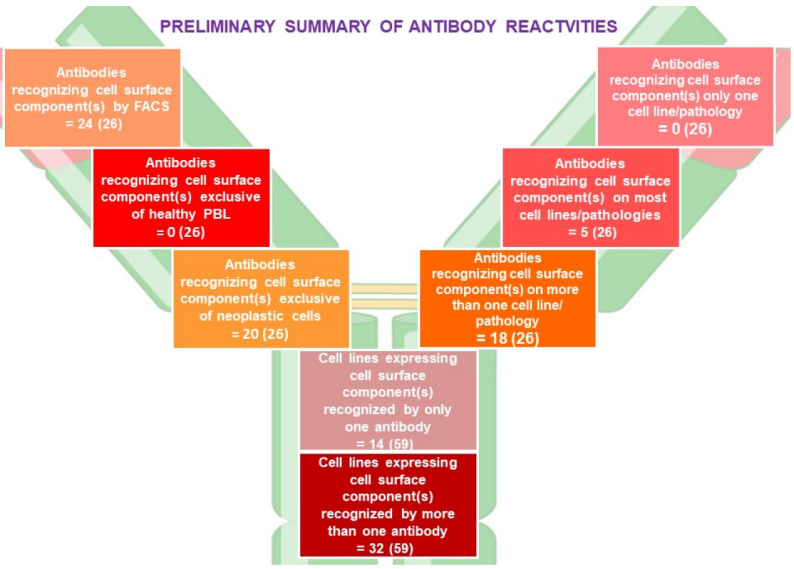


Fig. 3: Riassunto delle prime caratterizzazioni di un pannello di anticorpi monoclonali prodotti avvalendosi del sistema di Reversed Immune Glycoproteomics

Esempio di applicazione

SVILUPPO DI ANTICORPI CONTRO NUOVI ANTIGENI DELLE CELLULE DI LINFOMA E LEUCEMIA

Il sistema ha permesso di creare un pannello di 26 anticorpi monoclonali diretti contro uno spettro di antigeni specifici di cellule di alcuni tipi di linfoma e di leucemia. Gli anticorpi sono in fase di sviluppo preclinico con l'obiettivo di essere trasferiti ad un'importante società farmaceutica per ulteriori sviluppi e la sperimentazione in pazienti.

Una prima batteria di anticorpi monoclonali murini prodotti sulla base dell'impiego del sistema "Reversed Immune Glycoproteomics" sono stati parzialmente sperimentati su un pannello di oltre 100 linee cellulari di linfoma e leucemia e sono attualmente in fase di caratterizzazione per la loro reattività contro cellule isolate da pazienti con tali patologie. Parallelamente sono in corso determinazioni delle proprietà molecolari e strutturali degli antigeni riconosciuti, unitamente a simili analisi molecolari-strutturali delle immunoglobuline.

Partner coinvolti

Onco-ematologici clinici dell'Università di Verona, dell'IRCCS Istituto Romagnolo per lo Studio dei Tumori "Dino Amadori" - IRST S.r.l., del centro di genomica funzionale e il Functional Genomic Center (FGCZ) dell'Università di Zurigo.

Tempi di realizzazione

Sei mesi

Livello di maturità tecnologica

TRL 3 - prova sperimentale del concept

Valorizzazione applicazione

Numerosi anticorpi monoclonali generati tramite il sistema di Reversed Immune Glycoproteomics sono oggetto di contrattazione per il loro licenziamento a grandi società farmaceutiche del circuito Big Pharma e sono oggetto di depositi di domande brevettuali.

COMT
Centro di Oncologia Molecolare e Traslazionale
UNIVERSITÀ DI PARMA

COMT

Centro di Oncologia Molecolare e Translazionale



Il Centro opera con prevalenza nel campo dell'oncologia sperimentale e traslazionale, racchiudendo solide competenze trasversali nell'ambito dell'oncologia clinica, della chirurgia oncologica, della medicina nucleare, della radiologia e dell'anatomia patologica.
Il Centro si interfaccia con i settori biomedicali, biotecnologici e in particolare con la piccola e grande industria farmaceutica a livello nazionale ed internazionale. Un'altra area di grande interesse del Centro è quella della prevenzione oncologica, declinata sia nell'ambito della diagnosi precoce che della nutrizione e dell'eco-tossicologia.
La Mission del Centro è di trasferire il più rapidamente possibile le scoperte del laboratorio alla pratica clinica e per accelerare questo passaggio il Centro si avvale dell'oncologia veterinaria, apportando un ovvio doppio beneficio sia all'uomo che al mondo degli animali domestici.
Il Centro detiene degli assets irripetibili in Regione, quale ad esempio una banca cellulare di oltre 500 linee e 60 tipi di cellule primarie, una banca di ibridomi di oltre 1.500 cloni e, tramite un diretto collegamento con l'Azienda Ospedaliera di Parma, strutture certificate per la sperimentazione clinica di Fase 1 e per lo sviluppo ed applicazione a tutti i livelli di radio-traccianti per la diagnosi d'immagine.
Tramite alcune delle sue UO, il Centro può competere con la grande industria farmaceutica in termine di numeri e originalità di nuovi targets immunoterapici e pertanto una delle linee di ricerca e sviluppo del Centro è volta alla promozione dello sviluppo preclinico di tali nuovi agenti.

Sito web	https://www.centritecnopolo.unipr.it/comt/
Direttore	Susanna Maria Roberta Esposito
Data pubblicazione	30/12/2021