



EXAMENSARBETE INOM BIOTEKNIK,
AVANCERAD NIVÅ, 30 HP
STOCKHOLM, SVERIGE 2020

Investigation of localized B cell activation at stromal tumor microenvironment site by bispecific affinity proteins - AffimAbs

GUSTAV ANIANDER

1 Abstract

Cancer is a number of diseases where the cells in the body start growing and dividing out of control. It is a widespread health issue, which requires novel treatments to combat effectively. Some novel strategies involve activating the body's immune system and letting it attack the cancerous cells. This has been achieved through the use of engineered antibodies, normally a part of the immune system. Antibodies bind to different antigens and the areas that facilitate the binding are well known, allowing for manipulation of what the antibodies bind to. To activate the immune system, cell-surface receptors of T cells and B cells have been targeted. There has been some promise shown, but issues include systemic side effects, some of them severe. A proposed way to circumvent this is to try and only locally activate the immune system through the use of bispecific proteins. The idea behind this is to have specificity towards an activation target and another specificity towards some target of interest on cancer cells. One such class of bispecifics is AffimAbs, monoclonal antibodies (mAbs) with an affibody conjugated to them. An affibody is an affinity molecule derived from the staphylococcal protein A, with its main advantage being its small size of 7 kDa compared to an antibody at 150 kDa. This study investigates the ability of an AffimAb with specificity towards the cell-surface receptor CD40 expressed on B cells and specificity towards PDGFR- β , a cell-surface receptor found to be overexpressed in some types of cancer, to locally activate B cells. To investigate this a co-culture activation assay was designed and the separate parts validated. This included finding proper seeding density for PDGFR- β -expressing cells, establishing a protocol for isolating primary B cells, and validating binding of constructs towards targets. The results from the co-culture activation assay show that there is a potential higher activation for the AffimAb compared to a mAb, but the small scale of this study precludes it from being statistically significant. Further, larger assays need to be performed to show these results to be significant.

2 Sammanfattning

Cancer är en samling sjukdomar där kroppens celler börjar växa och dela sig okontrollerat. Det är ett utbrett hälsoproblem, som kräver nya behandlingar för att bekämpas effektivt. En del nya strategier involverar att aktivera kroppens immunförsvar och låta det attackera cancercellerna. Detta har uppnåtts genom användandet av designade antikroppar, som normalt är en del av immunförsvaret. Antikroppar binder till olika抗原er och delarna som skapar bindningen är väl kända, vilket låter oss manipulera vad designade antikroppar binder till. För att aktivera immunförsvaret har man inriktat sig på receptorer på cellytan av T- och B-celler. En del lovande resultat har setts, men problem med systemiska bieffekter har påträffats. Ett förslag för att undvika dessa bieffekter är att endast lokalt aktivera immunförsvaret genom användning av bispecifika affinitetsproteiner. Resonemanget bakom detta är att ha specificitet mot ett aktiveringsmål och en annan specificitet mot en antigen på cancerceller. En sådan klass av bispecifiker är AffimAbs, monoklonala antikroppar (mAbs) med en affibody konjugerad till dem. En affibody är en affinitetsmolekyl härstammande från protein A från stafylokokker. Dess största fördel är dess storlek, 7 kDa jämfört med 150 kDa för antikroppar. Den här studien undersöker förmågan av en AffimAb med specificitet mot ytreceptorn CD40 på B-celler och ytreceptorn PDGFR- β , som överuttrycks i vissa cancertyper, att lokalt aktivera B-celler. För att undersöka detta designades en ko-kultursaktiveringsassay och delarna validerades först separat. Detta inkluderade att hitta en fungerande seed-densitet för PDGFR- β -uttryckande celler, etablera ett protokoll för isolering av primära B-celler, och validera bindning av AffimAben till抗原erna. Resultaten från ko-kultursaktiveringsassayen visar på potentiellt högre aktivering för AffimAb jämfört med en CD40 mAb, men den lilla skalan av denna assay gör att skillnaderna inte kan bedömas vara statistiskt signifikanta. Vidare, större assays behövs för att konfirmera dessa preliminära resultat.

