

# ÉLŐ ADÁS

előadások a biológia világából



Kacskovics Imre

Genetikailag módosított állatok alkalmazása  
a terápiás ellenanyagok előállításában

2013. október 2. 18.00

ELTE TTK Déli Tömb fszt., Kitaibel Pál terem (0-823)

Budapest, XI. kerület, Pázmány Péter sétány 1/c.



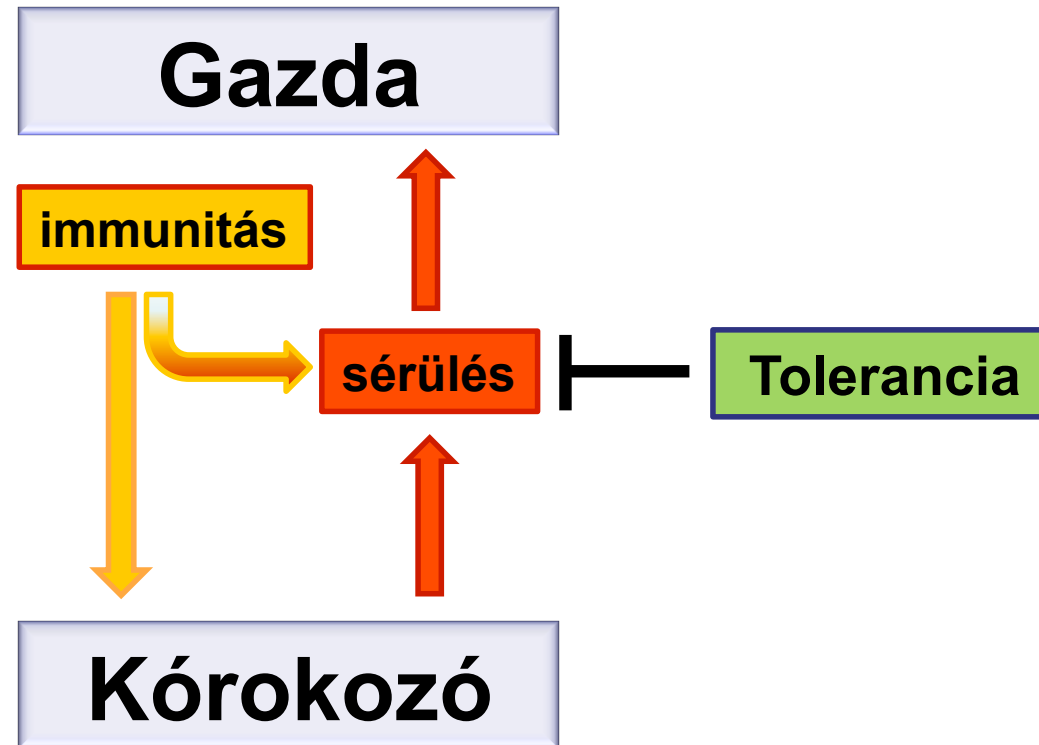


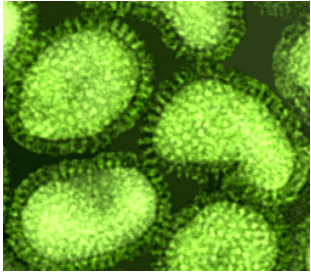
Harcban állunk!  
Régóta...



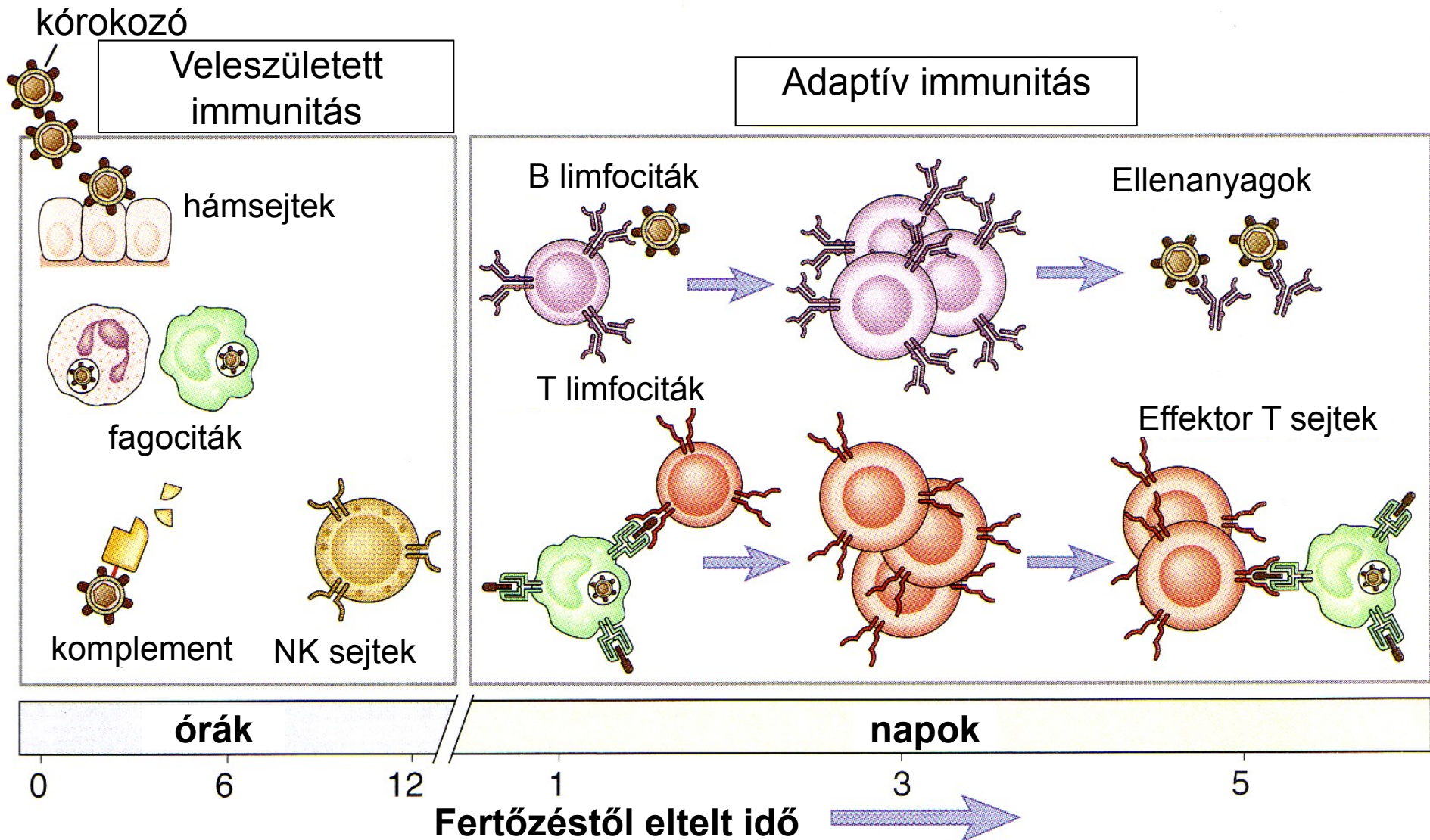
# Az immunrendszer működésének alapja:

*védelem a kórokozók ellen és  
tolerancia a saját szervezettel szemben*

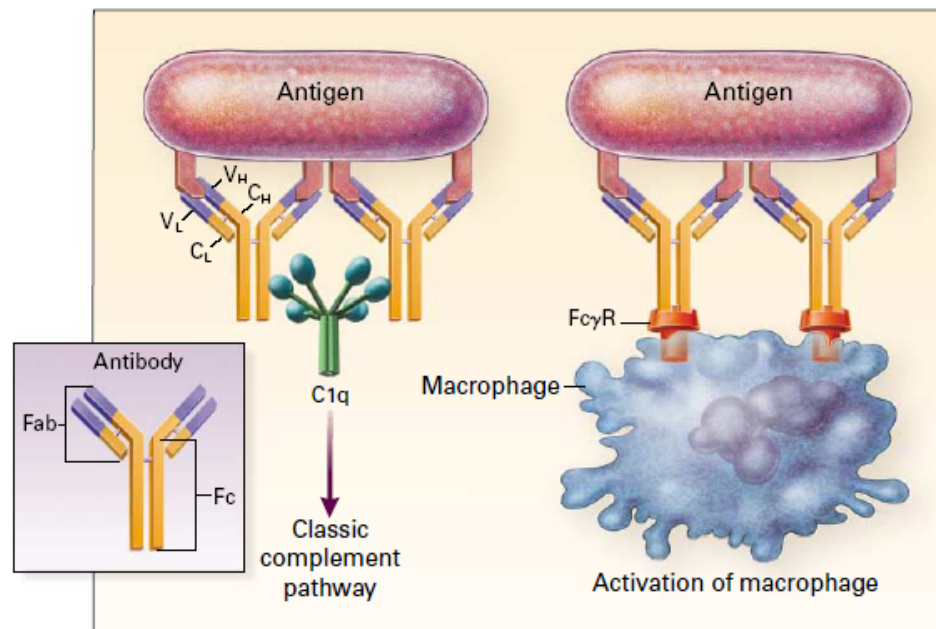
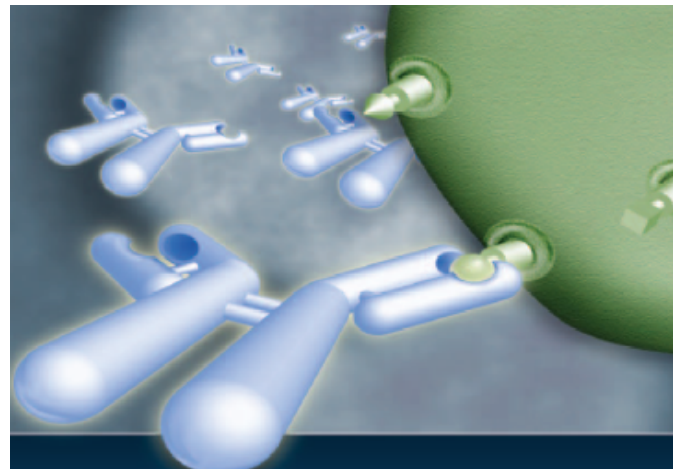
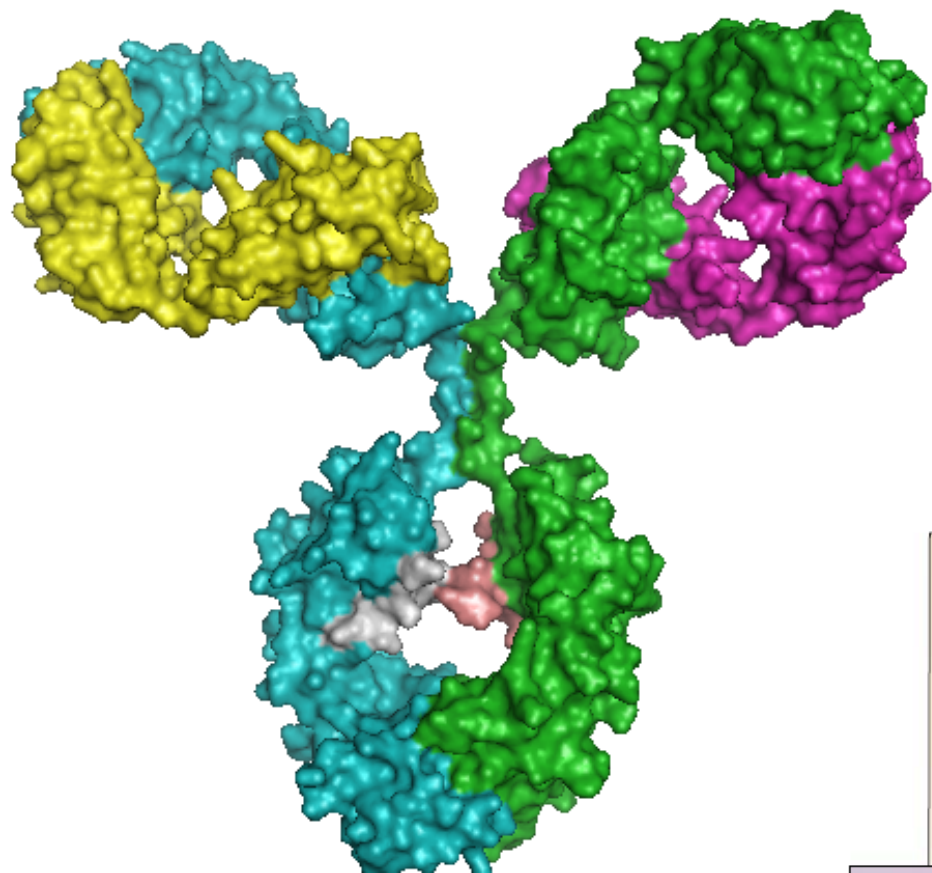




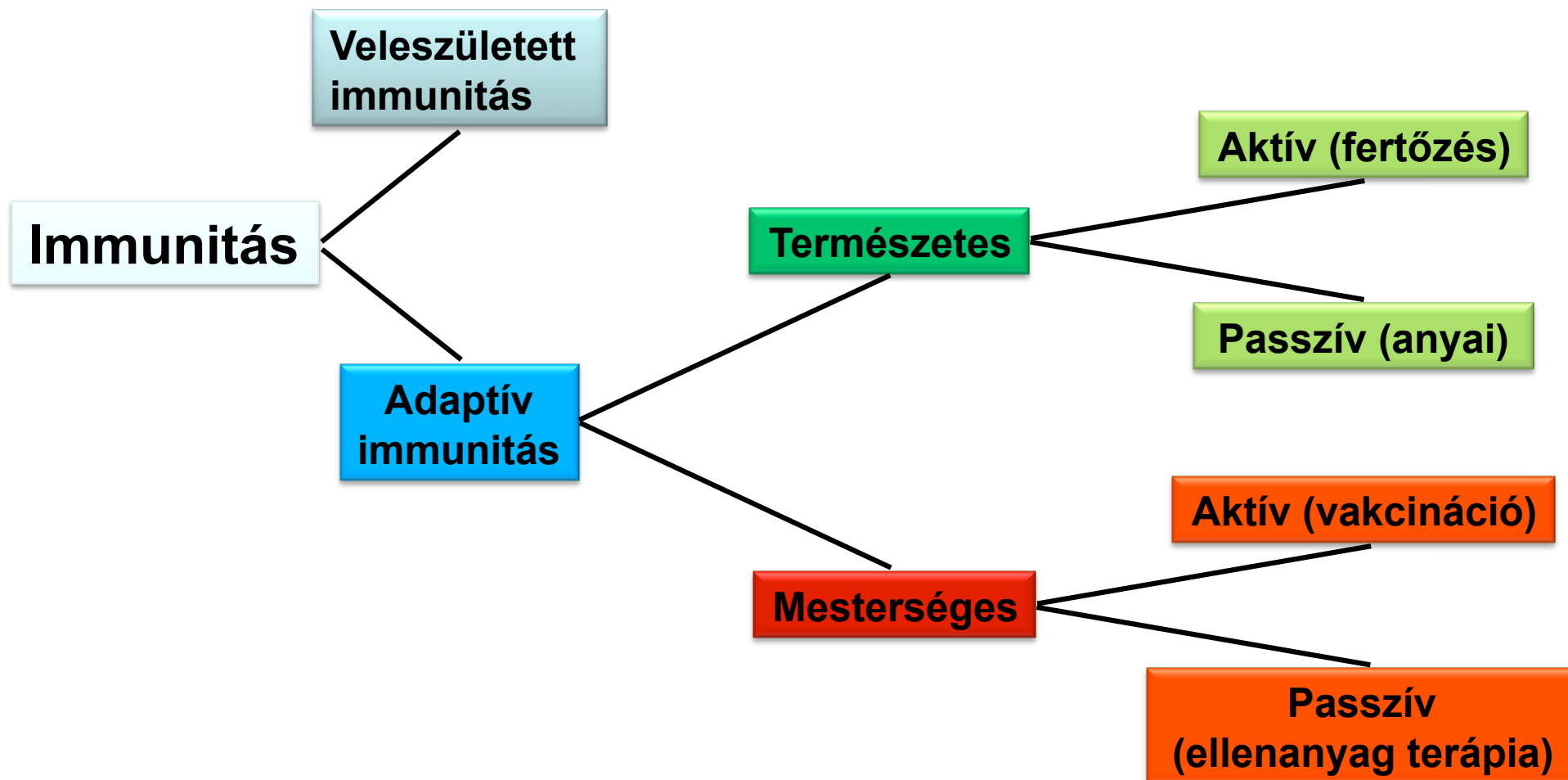
# A veleszületett és az adaptív immunválasz



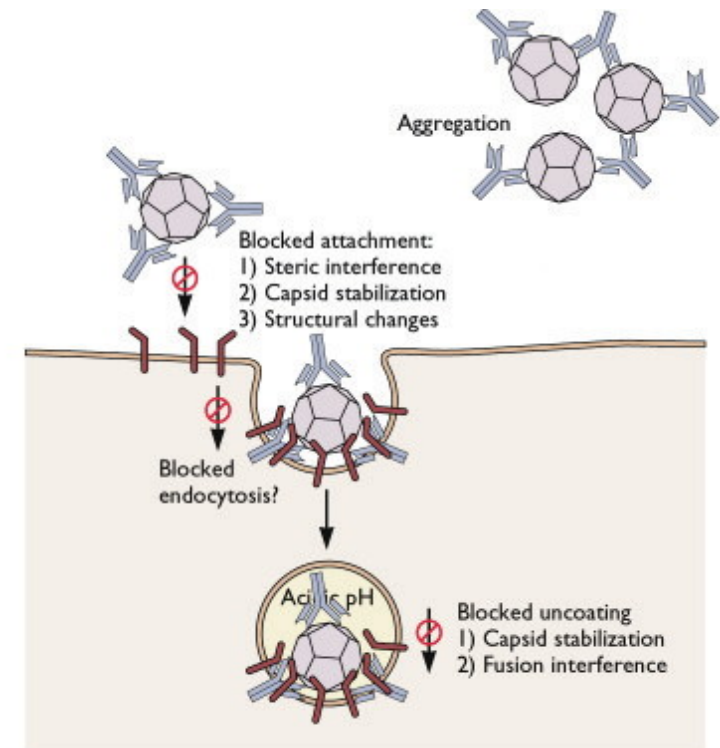
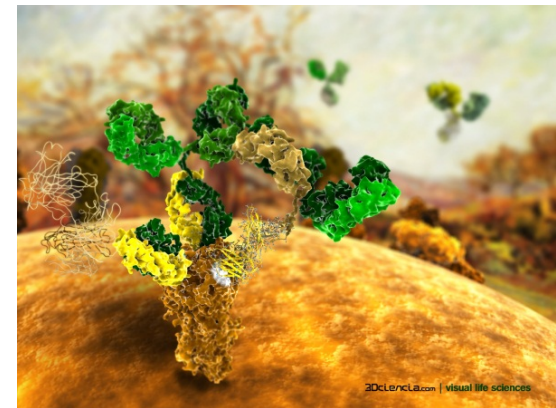
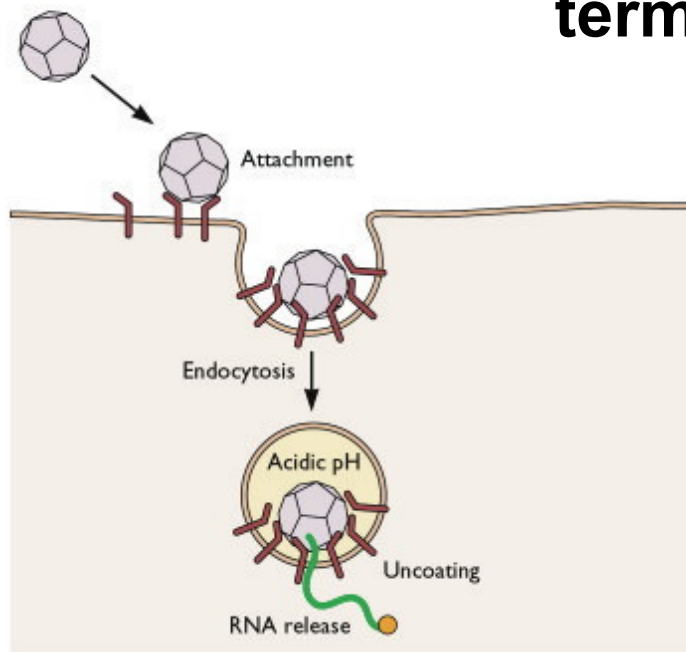
# Az ellenanyagok szerepe a kórokozók semlegesítése



# Az aktív és a passzív immunitás

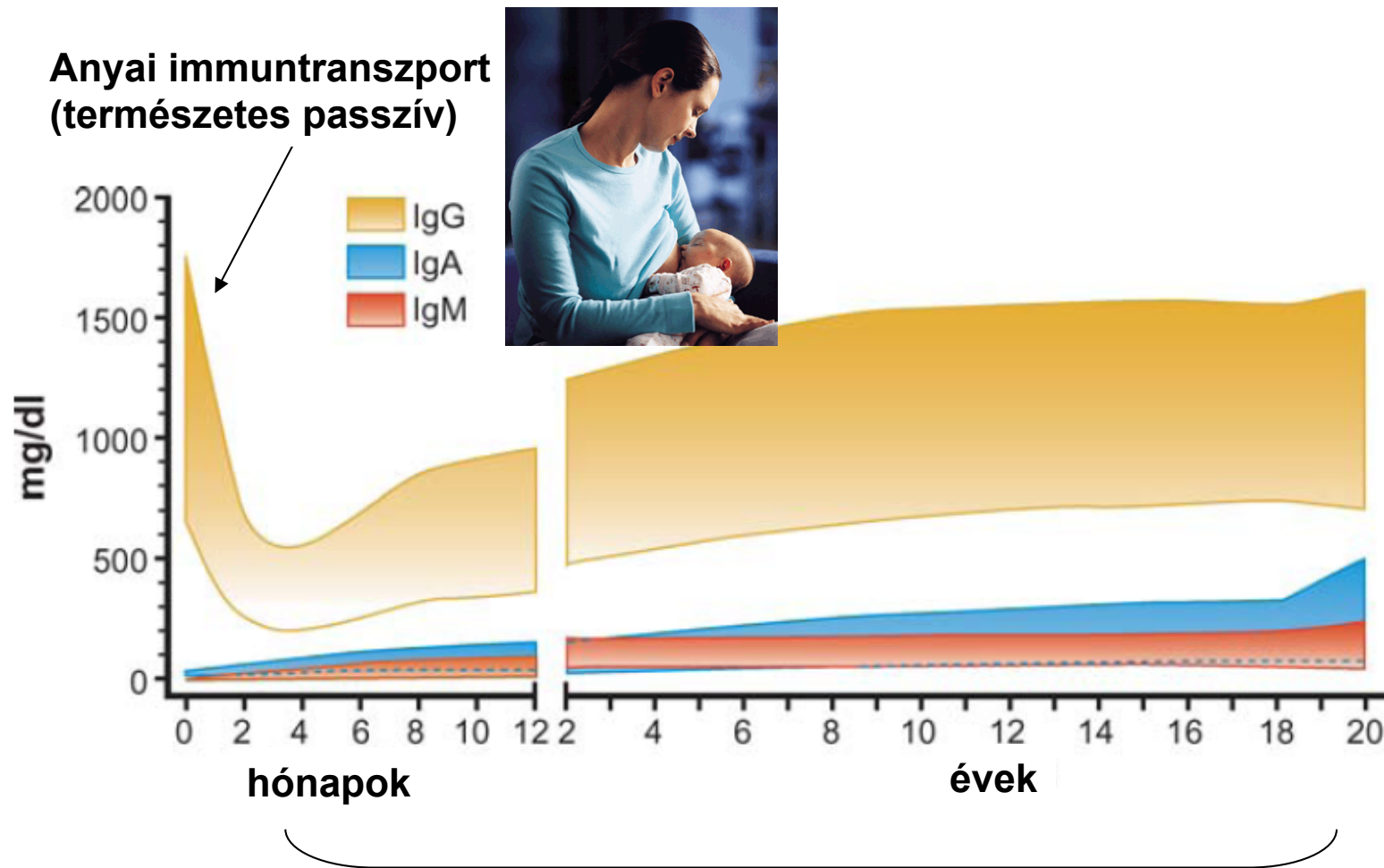


# A védőoltások kórokozót semlegesítő ellenanyag termelést serkentenek



(mesterséges aktív immunitás)

# A vér ellenanyag koncentrációja az egyedfejlődés során változik

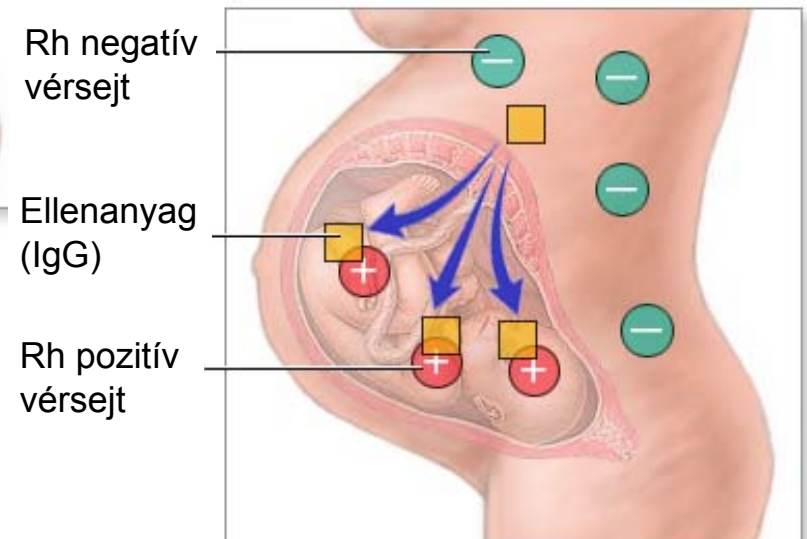
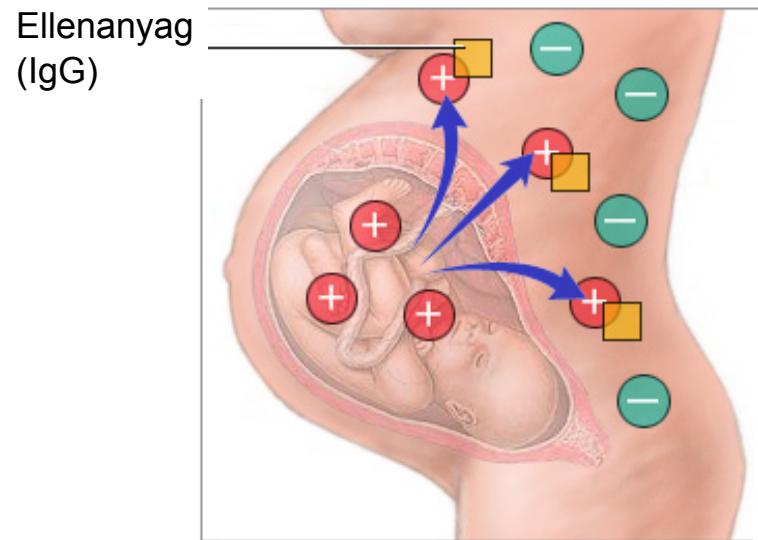
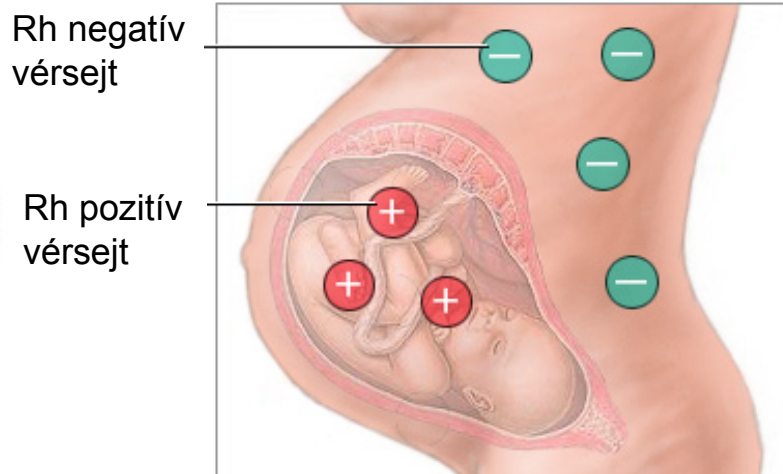


Immun hiányos beteg - intravénás immunglobulin kezelése (IVIG) (mesterséges passzív)



# Anyai immuntranszport: természetes, passzív immunizálás

életfontosságú, bár  
alkalmanként hátrányos



az Rh inkompatibilitás oka az anyai  
immuntranszport (hemolitikus anaemia)

# Hemolitikus anémia állatokban



szamárkanca

x



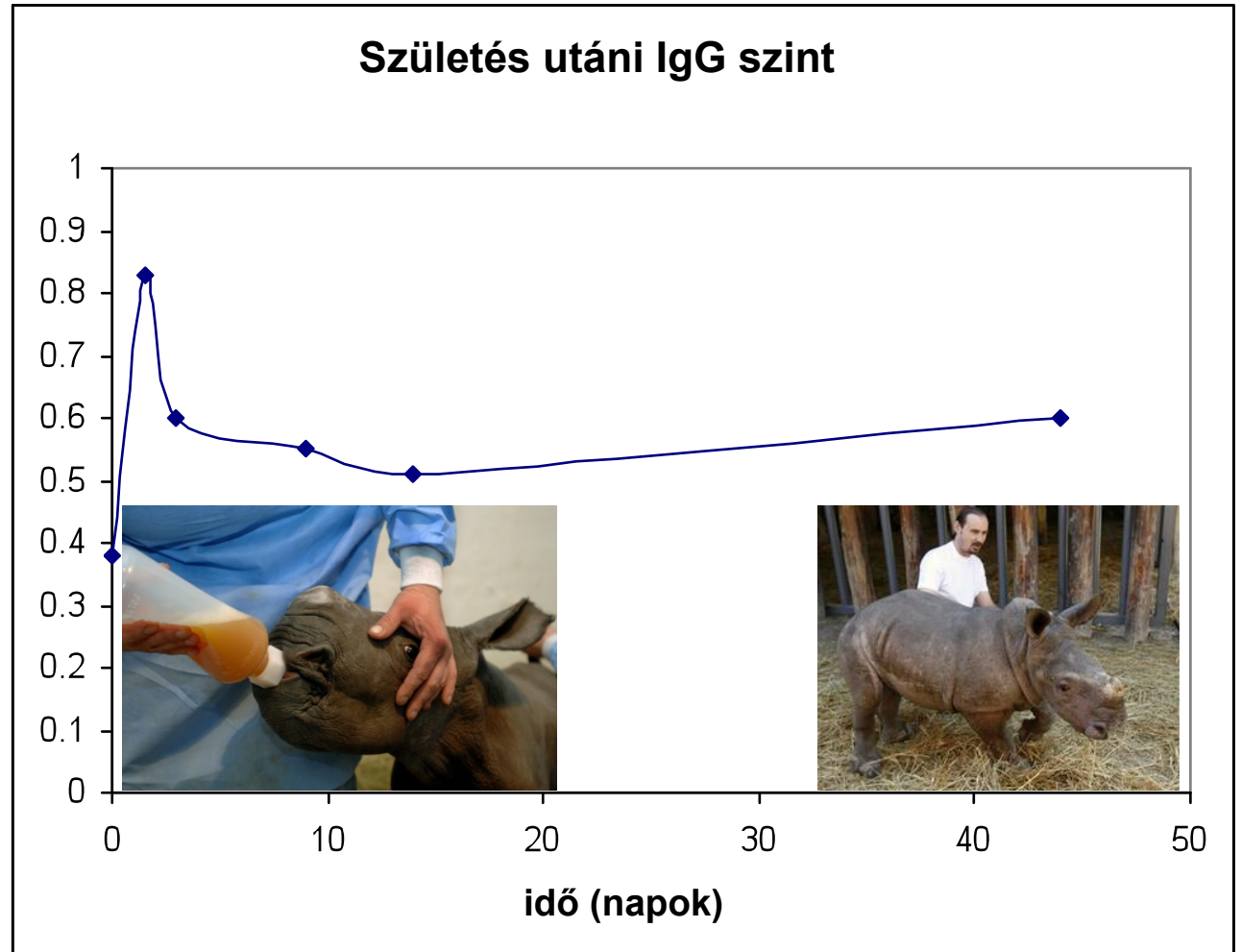
mén

Kolosztrummal átadott anti-ló  
vörösvérsejt ellenanyagok

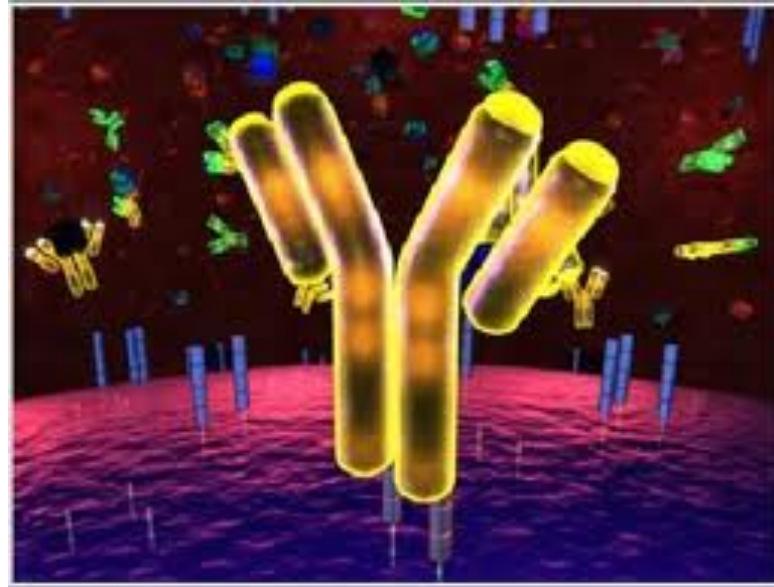


Súlyos beteg  
öszvércsikó  
(ugyanannak a párnak a  
második csikaja)

# Lulut, a Budapesti Állatkertben született orrszarvút, mesterséges anyai immuntranszporttal (ló IgG) tettük védetté



# Az ellenanyagok mesterséges alkalmazásai



## Terápia

### *Mágikus lövedékek*



## Diagnosztika



# Kígyóméreg elleni antitest terápia (mesterséges, passzív immunizálás)

kígyóméreg



Ellenanyag termelés birkában



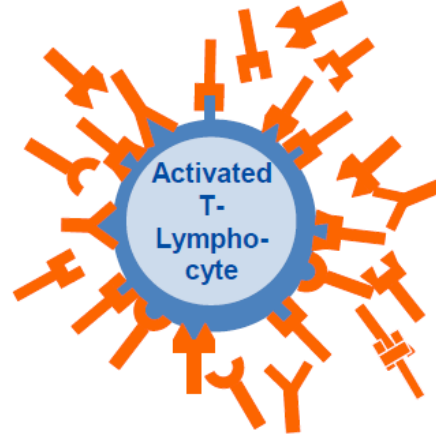
***Állati eredetű fehérje emberben immunreakcióhoz vezet!***

# Szervkilökődést megelőző antitest terápia (mesterséges, passzív immunizálás)

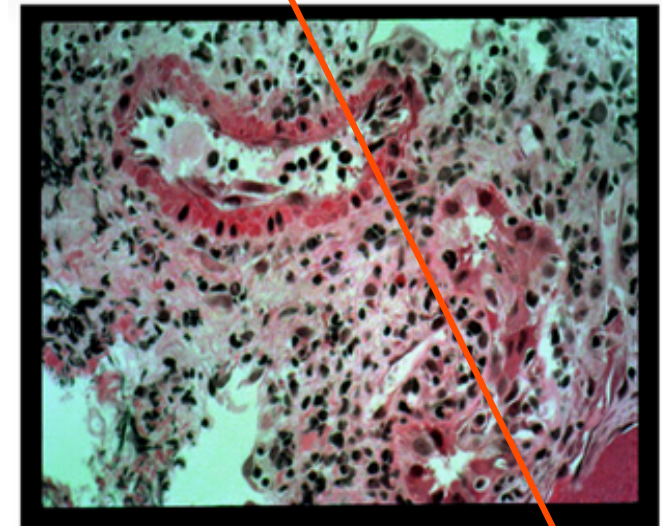
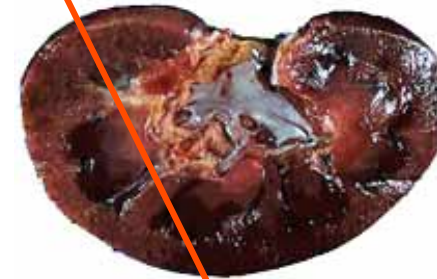
*egészséges vese*



**Thymoglobuline**  
Rabbit anti-human thymocyte immunoglobulin



*Nyúlban termelt  
T-limfocita specifikus  
ellenanyagokkal  
(\$ ~400 m/év)*

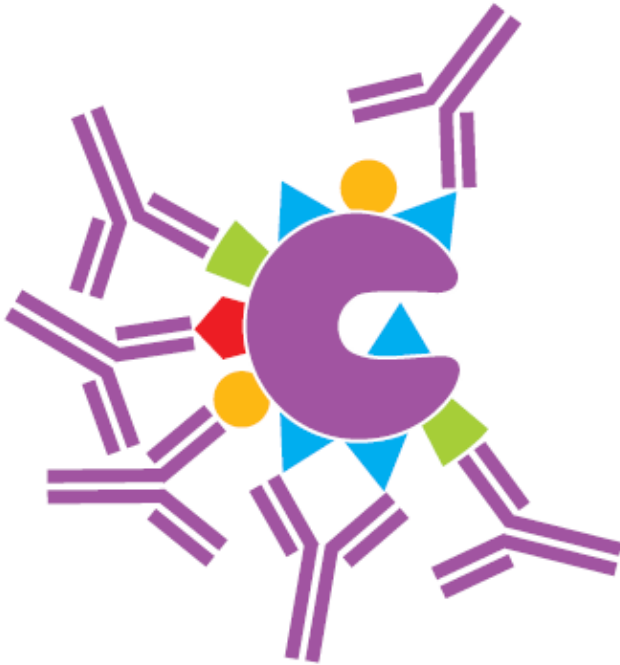


*T-limfociták által elpusztított  
vese - szervkilökődés*

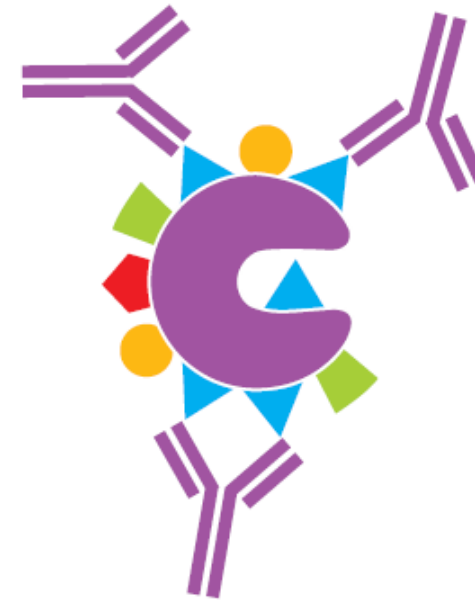
***Állati eredetű fehérje emberben immunreakcióhoz vezet!***

# Poliklonális ill. monoklonális ellenanyag tulajdonságai

poliklonális ellenanyag

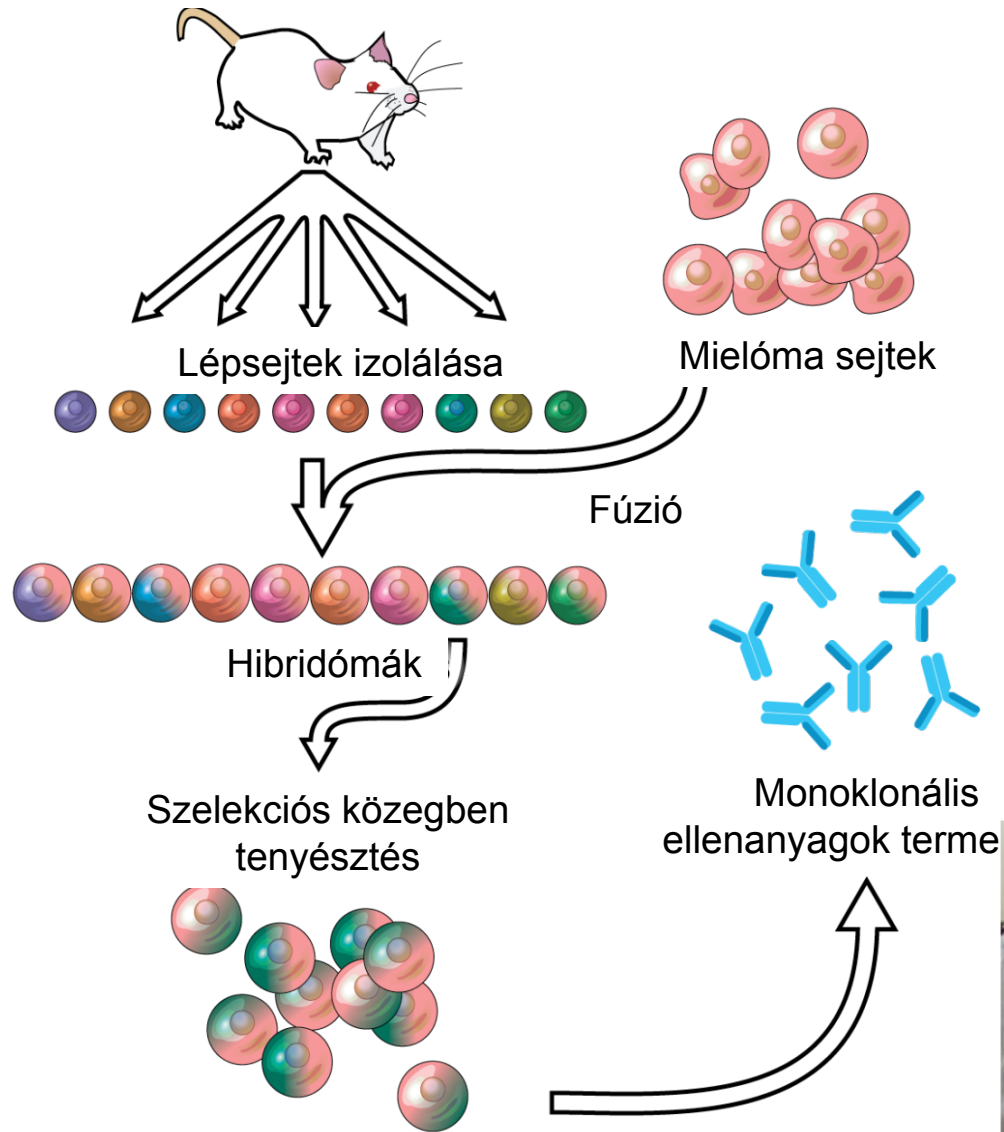


monoklonális ellenanyag



# Monoklonális ellenanyagok előállítása

Egér immunizálás a kérdéses molekulával

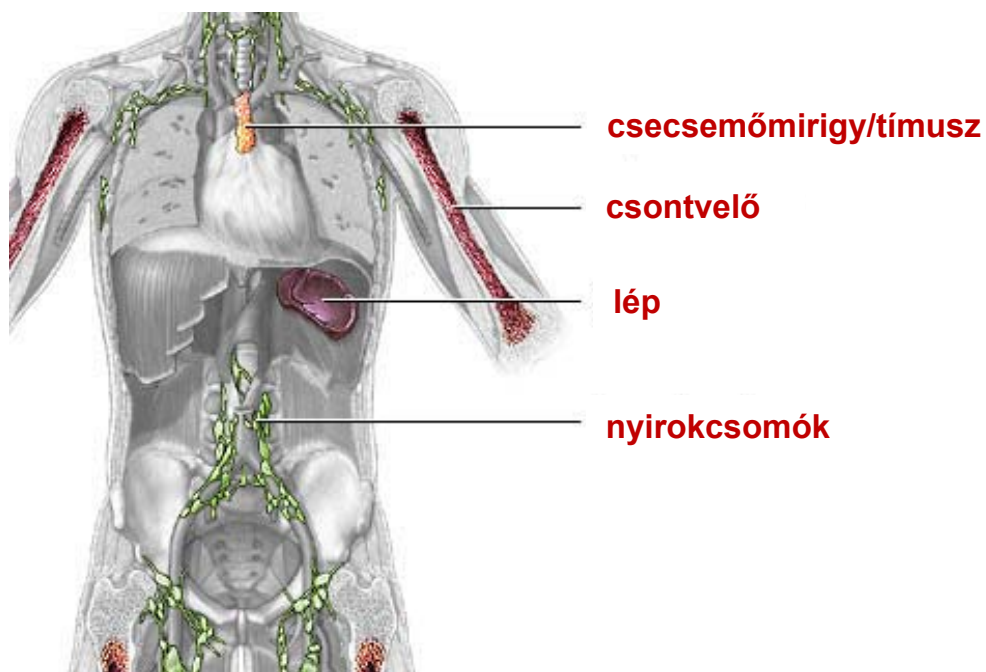




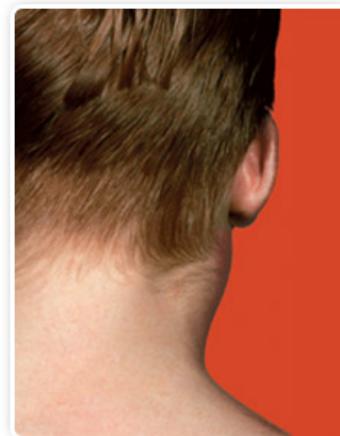
# Non-Hodgkin limfóma

**Tünet:** A non-Hodgkin-limfóma legjellemzőbb tünete a fájdalomtalan nyirokcsomó-megnagyobbodás, amely a nyakon, hónaljban vagy a lágyék területén jelentkezik, de más testtájékon is előfordulhat. Ha nagyobb csomót észlelünk, nem kell mindjárt limfómára gondolni, hiszen a különféle fertőzések okozta nyirokcsomóduzzanatok előfordulása gyakoribb, mint a rosszindulatú megbetegedés. Ha ez tartósan, két hét után is fennáll, vagy még a megfigyelési idő alatt tovább nő, és más okra nem derül fény, mindenképpen vizsgálandni kell tovább, részletes orvosi kivizsgálásra van szükség.

**Ok:** a B-limfociták korlátlan osztódása



A szervezet nyirok szervei

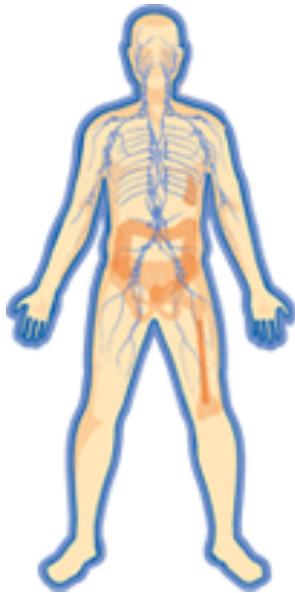


A nyaki nyirokcsomó megnagyobbodása utalhat rosszindulatú limfómára.

**Kezelés:** kemoterápia, sugárkezelés, valamint **immunterápia**

# Non-Hodgkin limfóma – kezelési lehetőségek

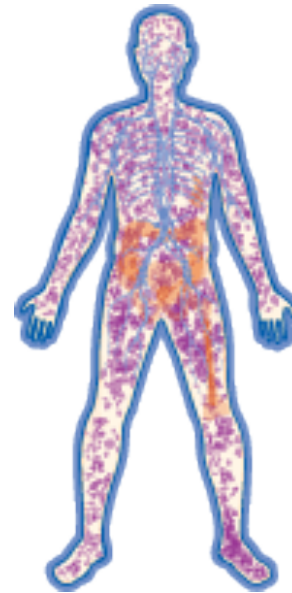
„Várj és figyelj”



Besugárzás



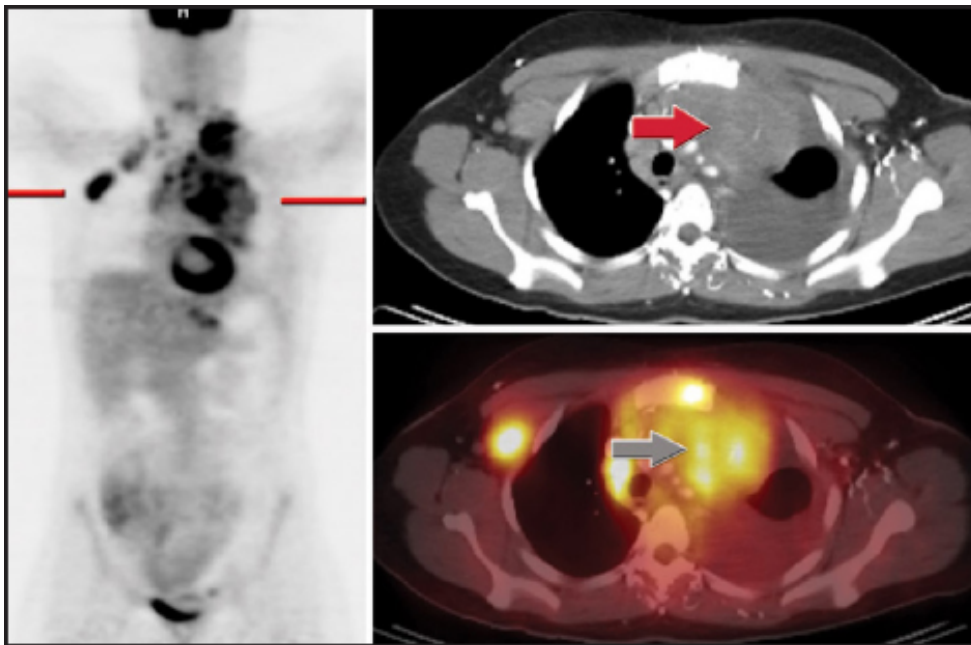
Kemoterápia



Immunterápia



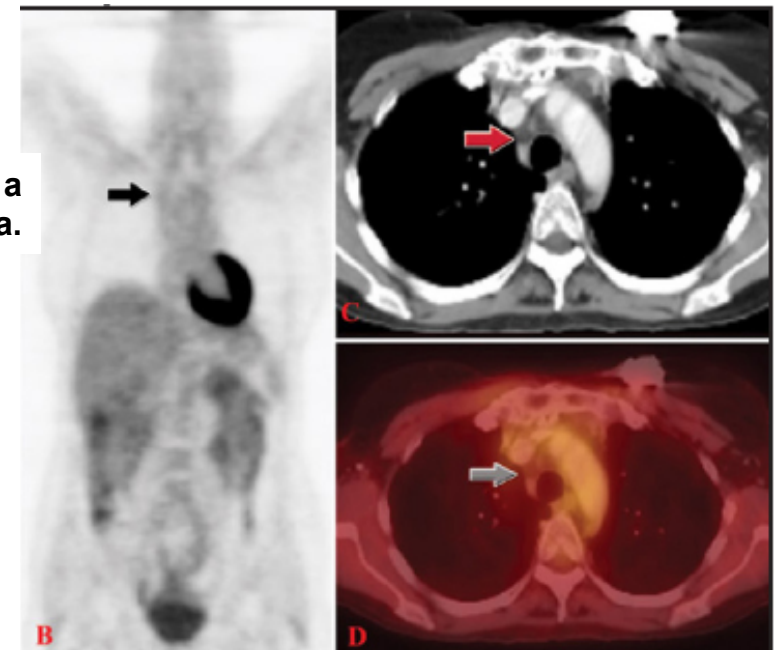
# Non-Hodgkin limfóma kezelése - kemoterápia



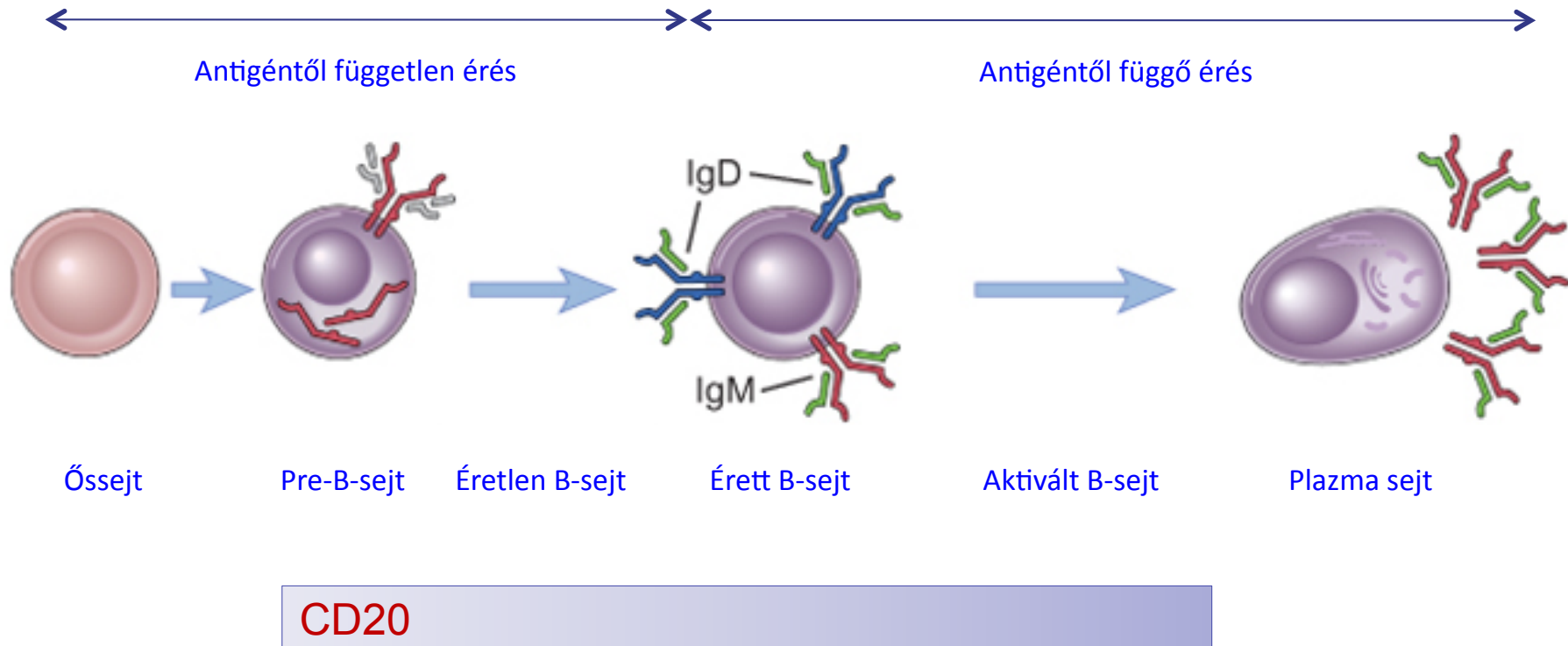
A mellkas felső régiójában egy nyirokcsomóból kialakult tumoros szövet.

A tumoros szövet mérete jelentősen csökken a kemoterápia hatására.

A daganatos nyiroksejtek gyorsan osztódnak ezért érzékenyek a megfelelő kemoterápiára, röntgenbesugárzásra. A betegek többsége jól reagál ezen kezelés valamelyikére, vagy a kettő kombinációjára. Bizonyos esetekben azonban agresszívabb kezelésre is szükség lehet. Hátránya, hogy nem specifikus, azaz a szervezet valamennyi gyorsan osztódó sejtjét elpusztítja – súlyos mellékhatásokkal, komplikációkkal jár.

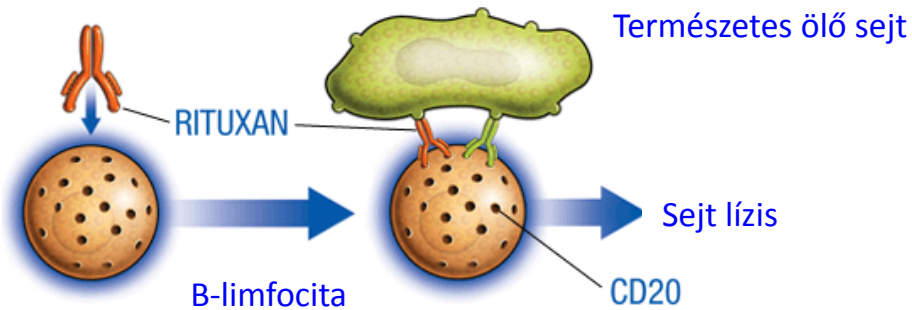


# CD20 – ideális célpont

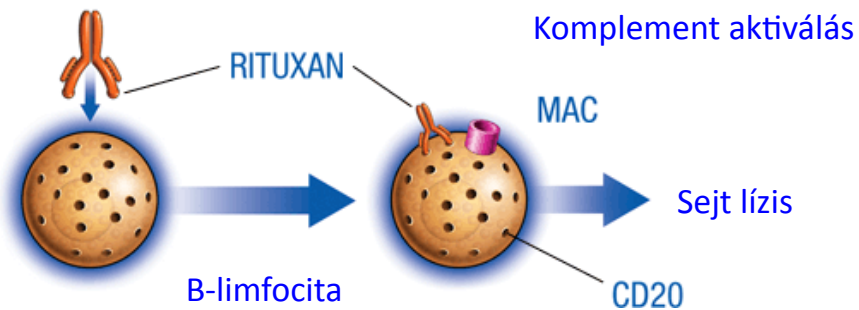


# Rituximab - a CD20<sup>+</sup> B sejteket célozza és pusztítja

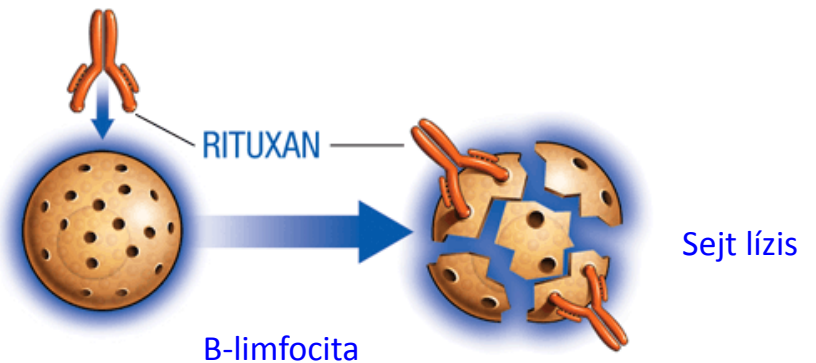
## 1. Ellenanyagfüggő sejt-független sejtölés (ADCC)



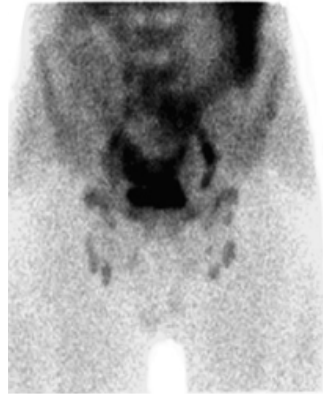
## 2. Komplement-függő sejtölés (CDC)



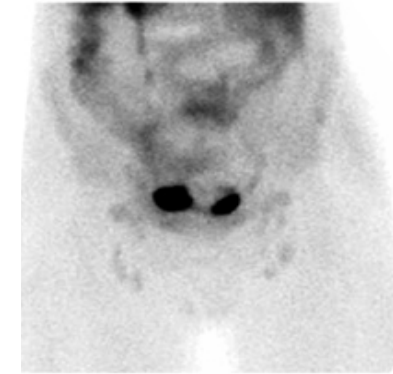
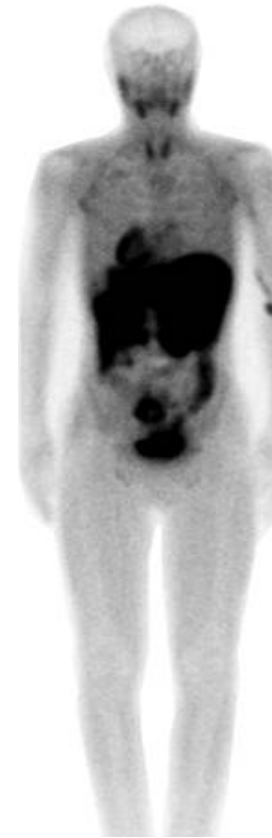
## 3. Programozott sejthalál (apoptózis) kiváltása



# Non-Hodgkin limfóma kezelése – monoklonális ellananyaggal (Rituximab)



A hasüregben számos nyirokcsomó megnagyobbodása látható – tumoros nyirokcsomók



Rituximab hatására a tumorok mérete jelentősen csökken, sőt eltűnik.

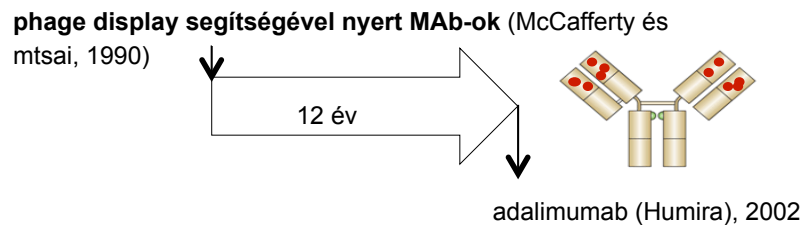
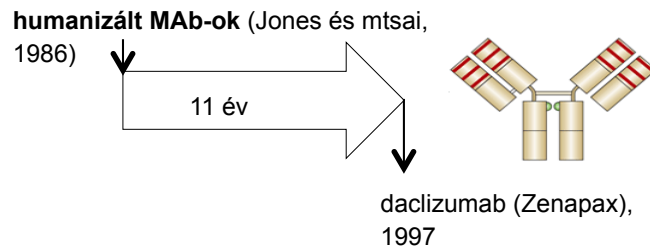
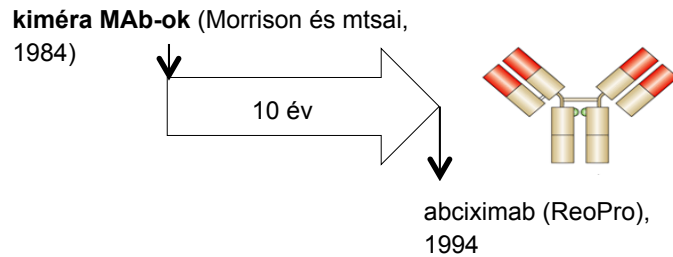
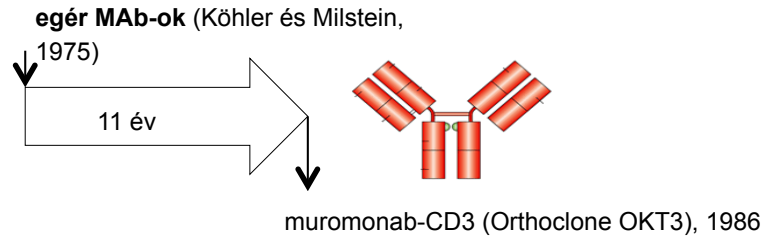
A limfóma kezelésében mérföldkövet jelentett az immunterápiának az a formája, amely a daganatos nyiroksejtek ellen kifejlesztett ellenanyaggal, a gazdaszervezet jelentős károsítása nélkül csak a beteg sejteket pusztítja el. Ez az új, jól tolerálható immunterápia ma már a kezelés standard részévé vált. A célzott kezelés, egy a daganatsejtek felszínén nagy mennyiségben található fehérjéhez kötődik, és a szervezet védekező rendszerének segítségével az így megjelölt beteg sejtek pusztulását eredményezi. Alkalmazásával a terápiás eredmények javulása észlelhető, a mellékhatások fokozódása nélkül.

# Tumorterápia ellenanyagokkal - anti-CD20 monoklonális ellenanyag (Rituximab)

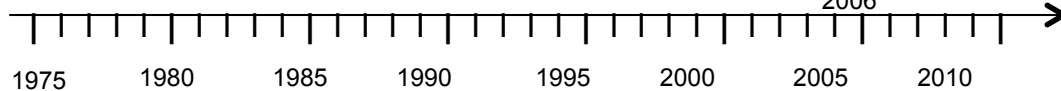
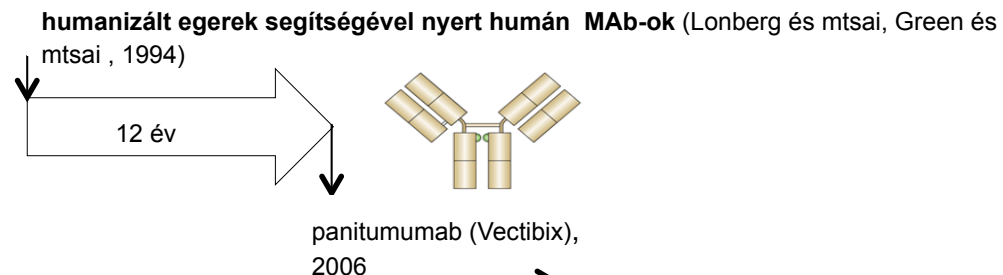


Forrás: Roche (Genentech)

# A terápiás monoklonális ellenanyagok “evolúciója”



- egér
- glikolizálódás
- helye
- CDR régiók

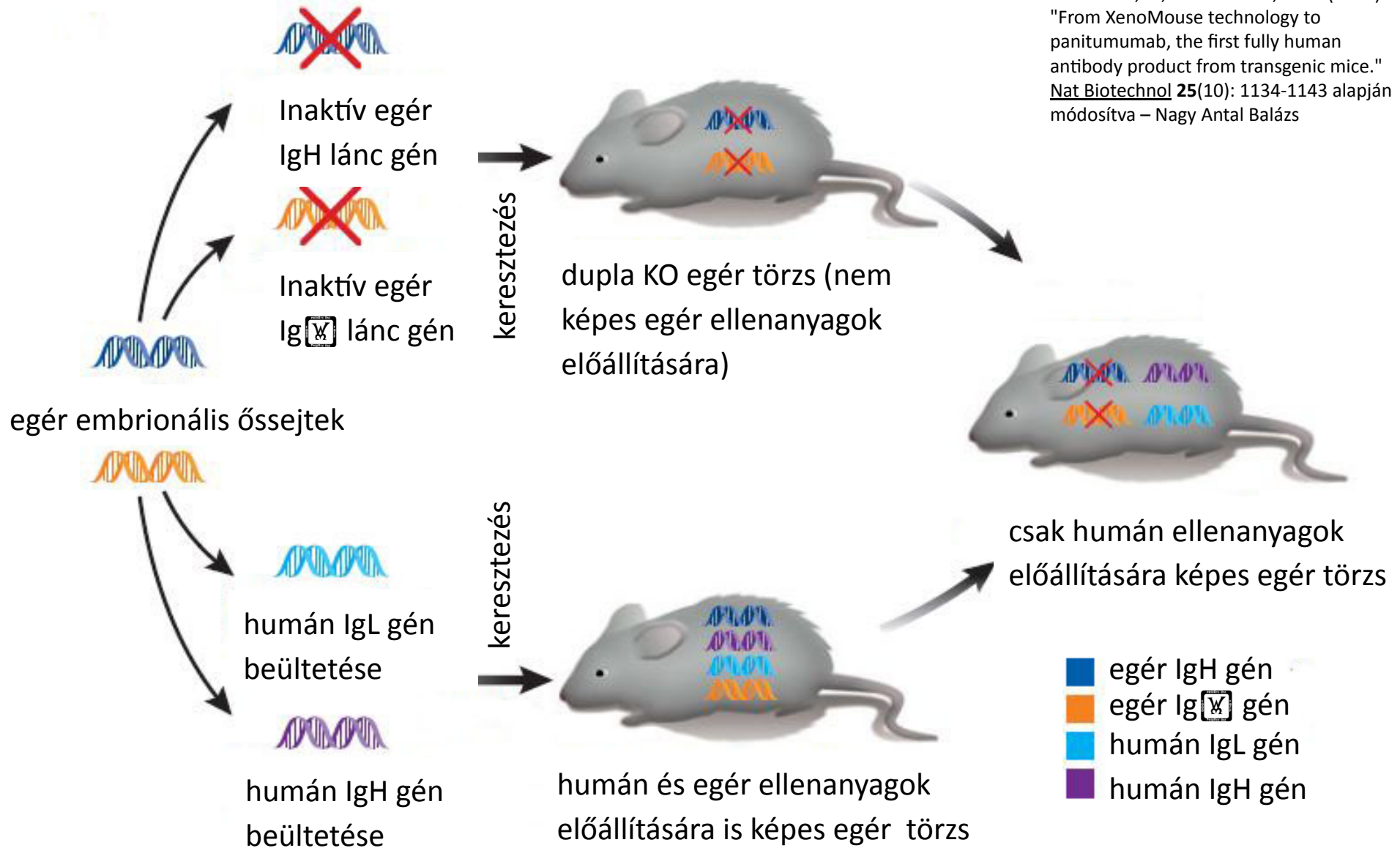


Lonberg, N. (2005). "Human antibodies from transgenic animals." *Nat Biotechnol* **23** (9): 1117-1125 alapján módosítva – Nagy Antal Balázs MSc

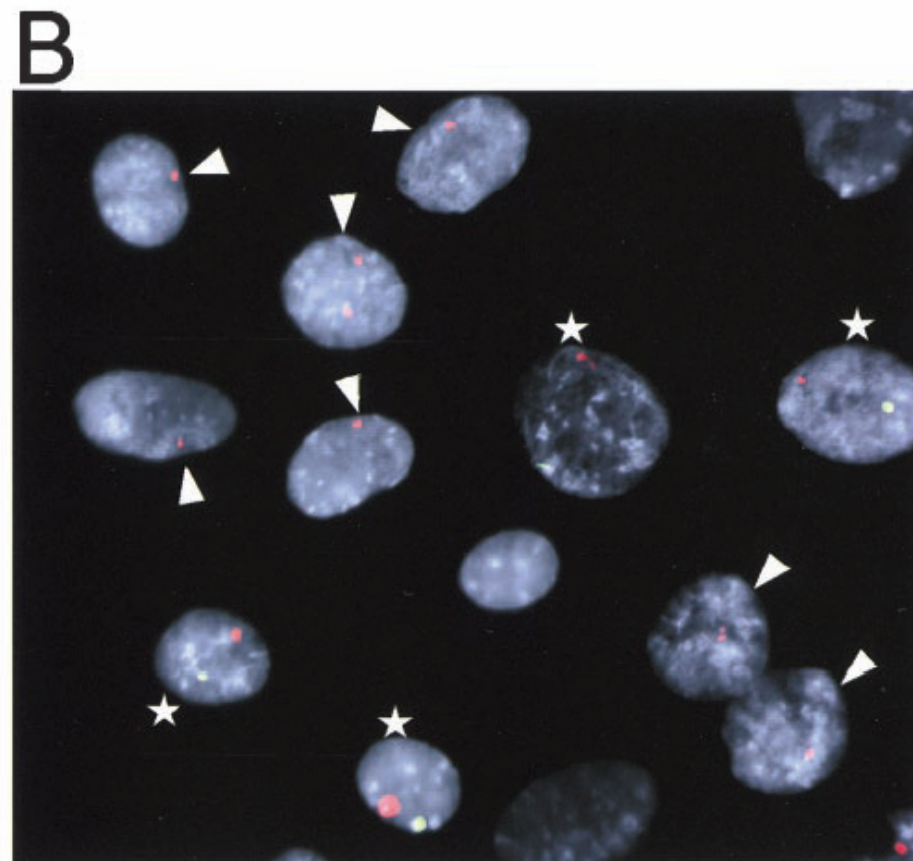
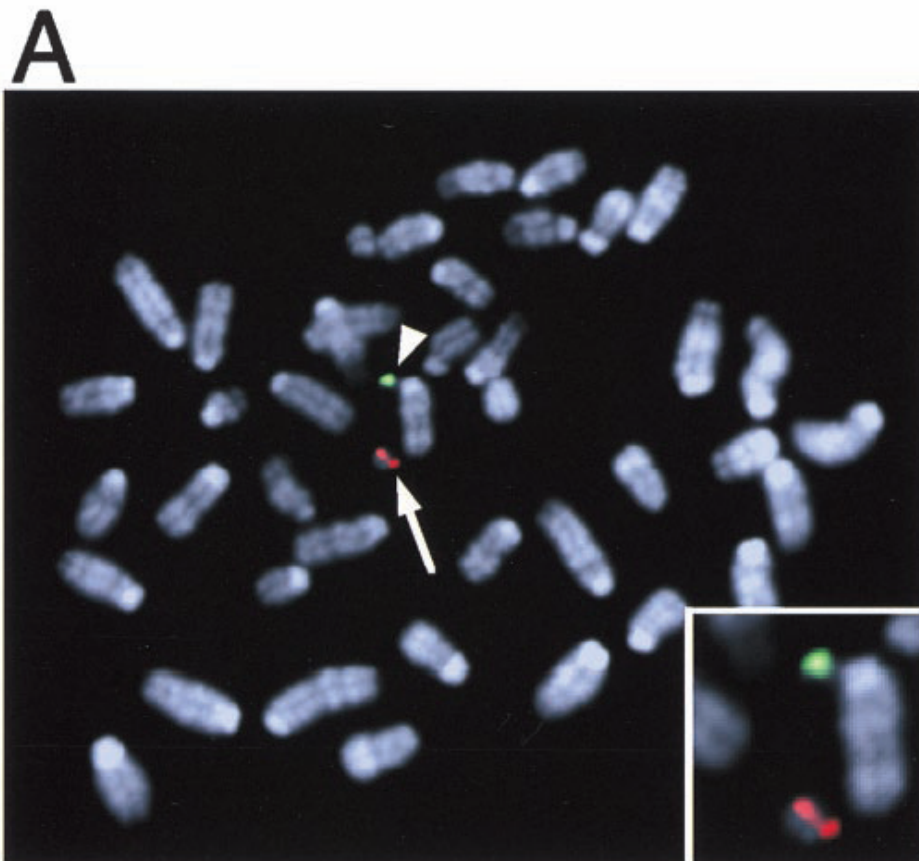


# Humanizált transzgenikus egerek

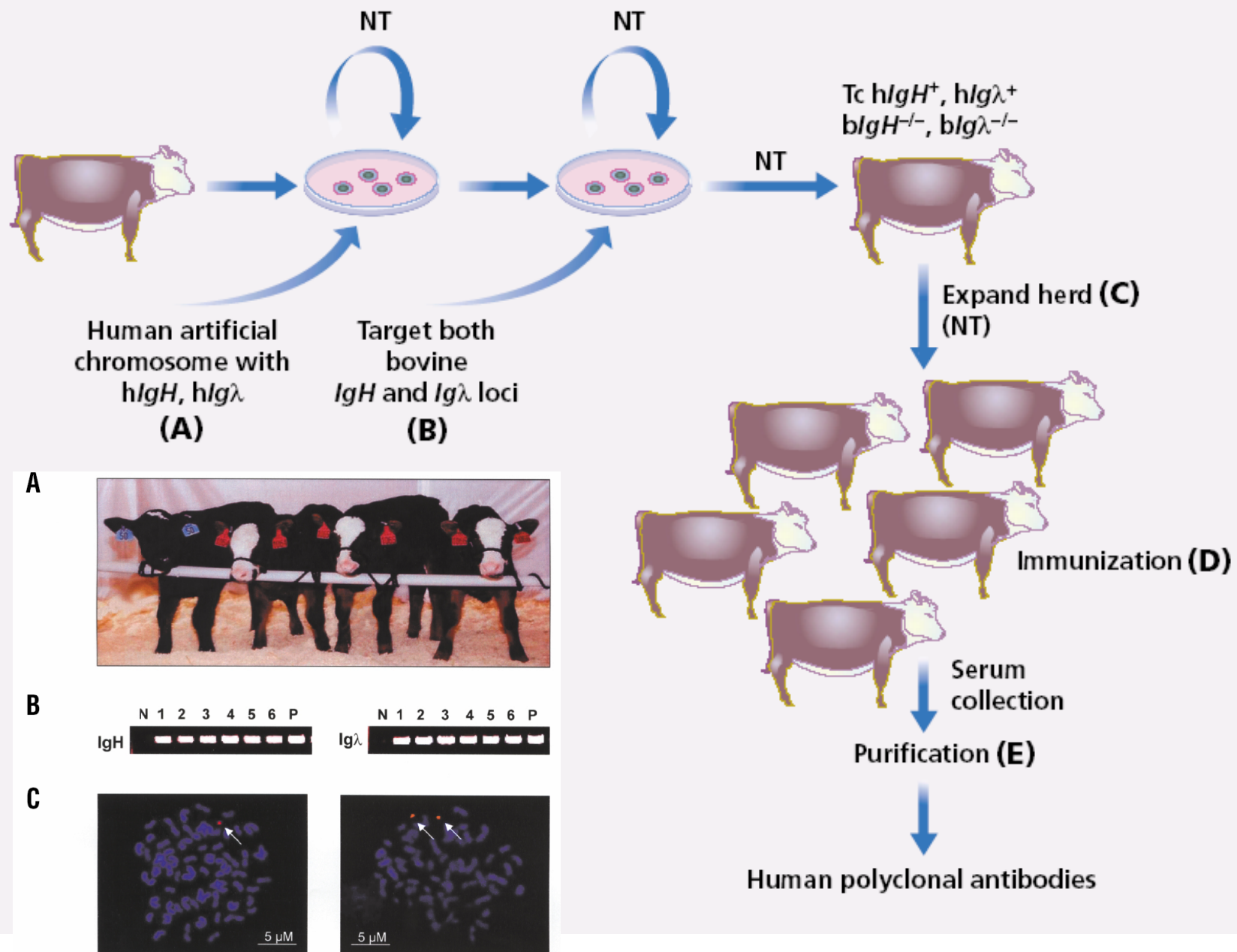
Jakobovits, A., R. G. Amado, et al. (2007).  
"From XenoMouse technology to panitumumab, the first fully human antibody product from transgenic mice."  
Nat Biotechnol 25(10): 1134-1143 alapján  
módosítva – Nagy Antal Balázs



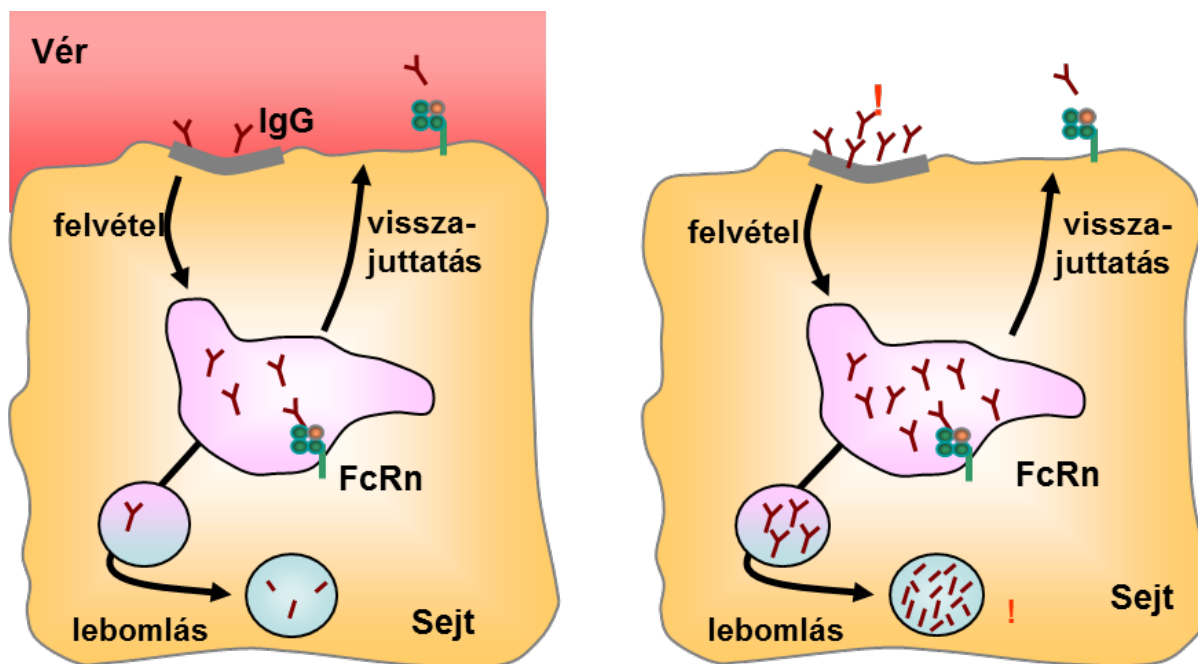
# Dupla transzkromoszomális egér: a humán nehéz- és könnyű (k)-láncot hordozzák



# Humán poliklonális ellenanyagot termelő transzkromoszómális szarvasmarha - Hematech



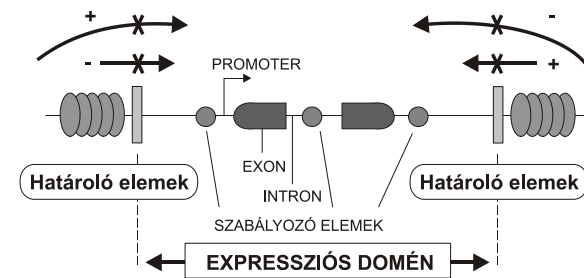
# Az FcRn szerepe az IgG homeosztázisban



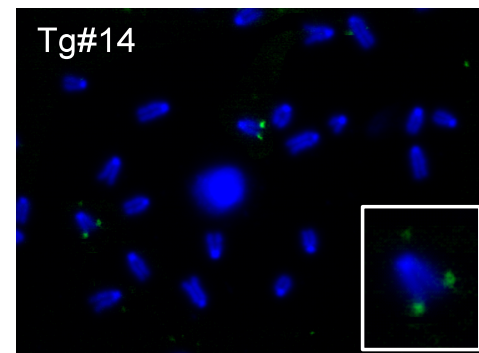
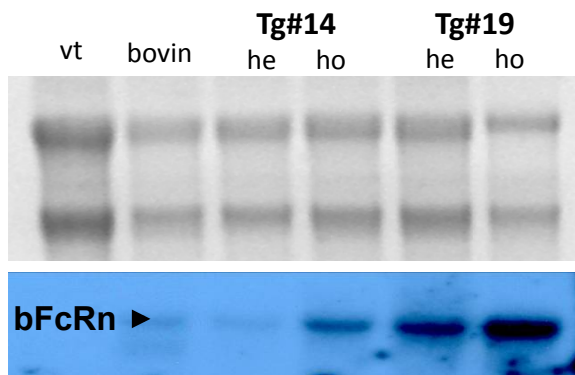
Fiziológiás IgG koncentráció:  
hatékony védelem:  
az IgG visszajut a szérumba

Magas IgG koncentráció:  
Nem hatékony védelem,  
jelentős IgG *lebomlás*

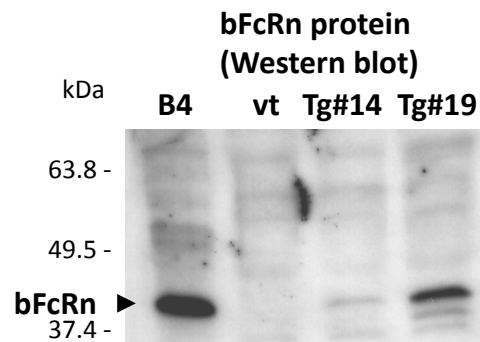
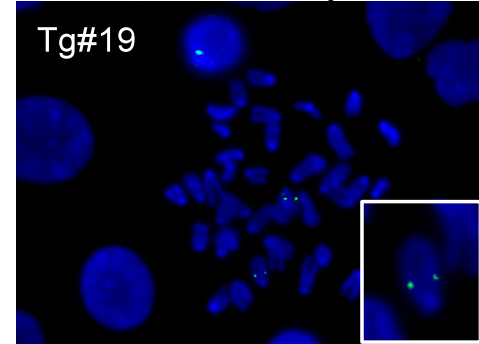
# A szarvasmarha FcRn-t fokozott mértékben kifejező transzgenikus egerek előállítása bakteriális mesterséges kromoszómával (BAC)



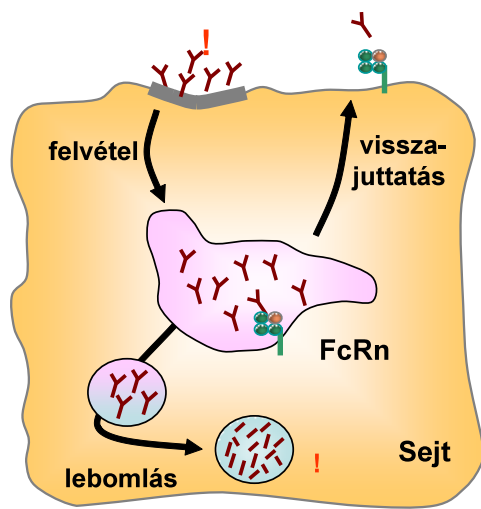
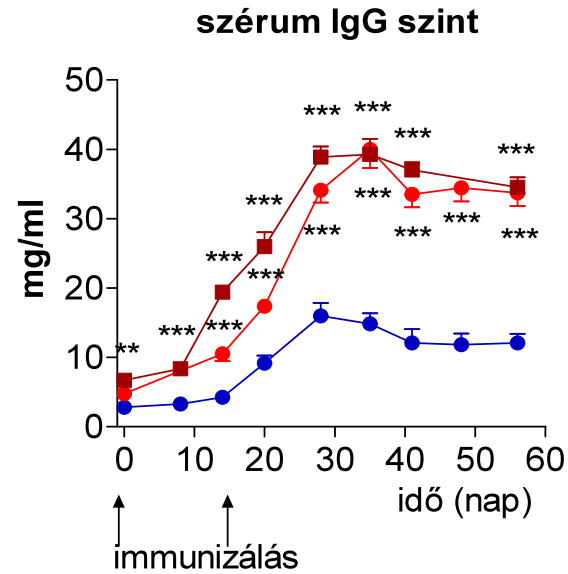
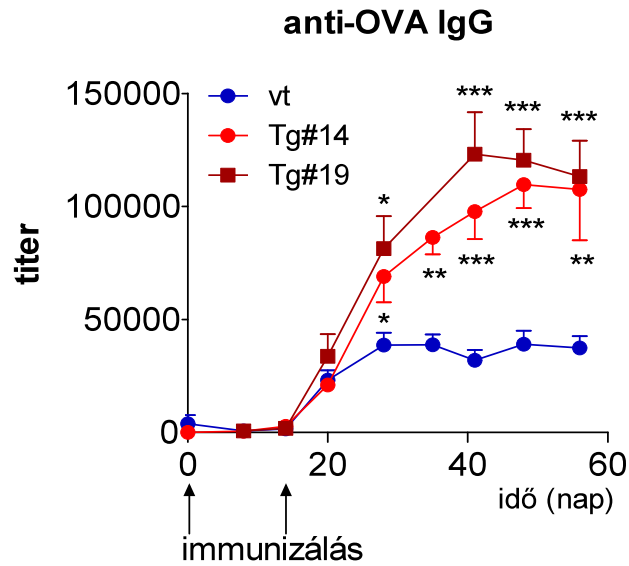
**bFcRn mRNS (Northern blot)**



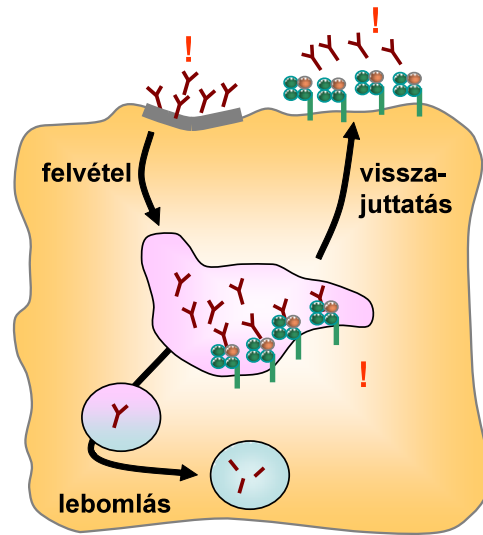
**Fluorescence In Situ Hybridization**



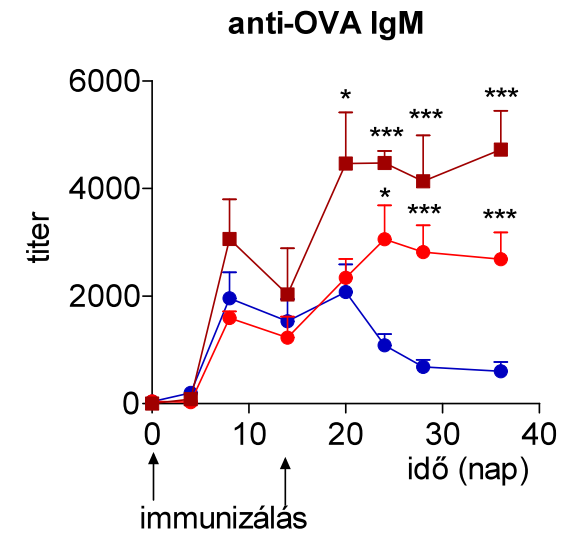
# bFcRn Tg egerekben fokozott mértékű antigén-specifikus ellenanyag termelődik



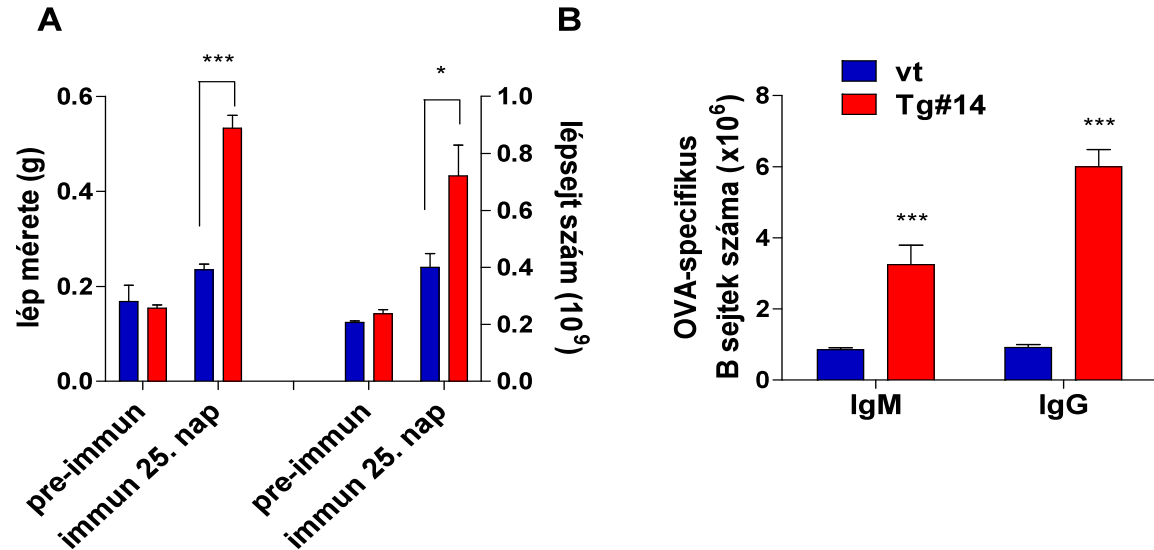
Magas IgG koncentráció:  
nem hatékony védelem,  
jelentős IgG lebomlás



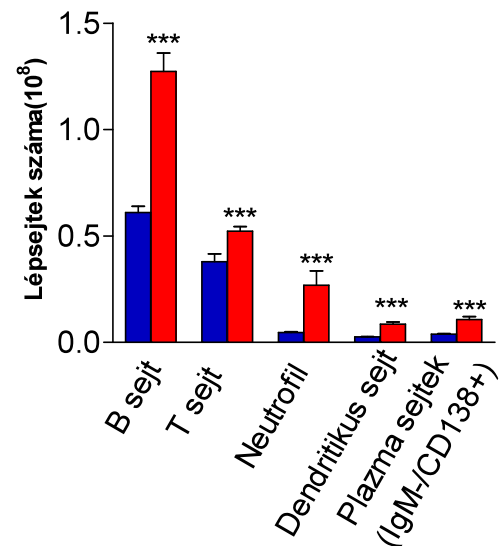
**TRANSZGENIKUS ÁLLAT  
IMMUNIZÁLÁSA**  
kiváló IgG védelem,  
sokkal kisebb mértékű lebomlás



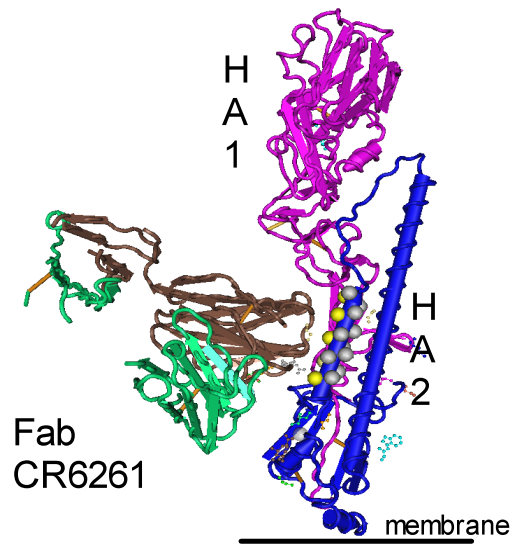
# bFcRn Tg egerekben fokozott mértékű a humorális immunválasz: Nagyobb lép, több lépsejt, *több antigén-specifikus B-sejt*



Tg és vt egerek lépsejtjei immunizálást követően

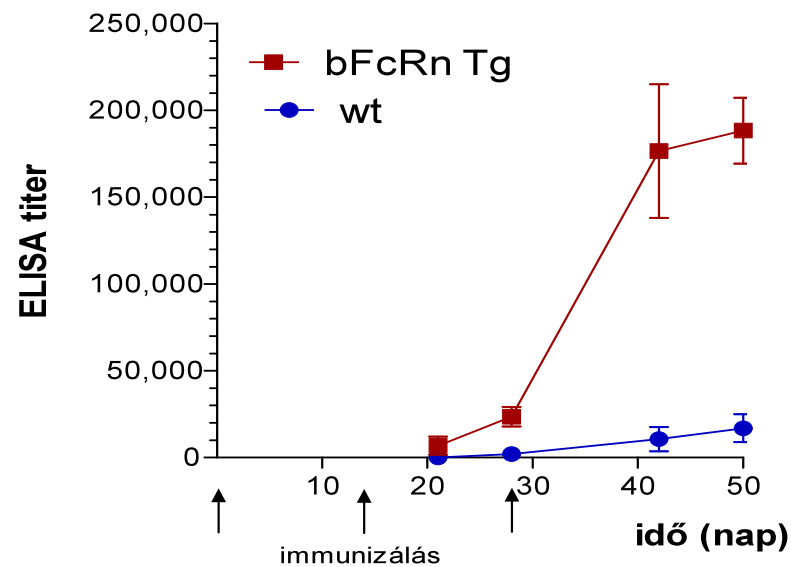


# A bFcRn Tg egerek hatékony immunválasza gyengén immunogén antigénekre az



*Ekiert et al. 2009. Science*

### FLU HA2 peptid specifikus IgG titer

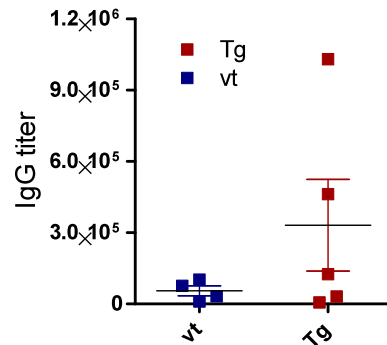


KLH-hoz konjugált HA2-peptid (influenza hemagglutin konzervált, nem immundomináns epitópja) csak a Tg állatokban váltott ki megfelelő immunválaszt

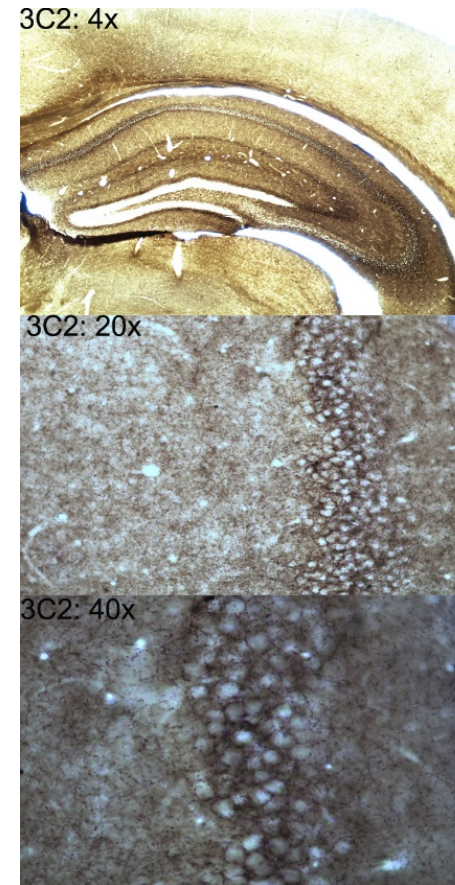


# A bFcRn Tg egerek hatékony immunválasza az 1. típusú kannabisz receptorra (CB1) értékes monoklonális ellenanyag előállításához vezetett

CB1-specifikus IgG titer



CB1-specifikus immunhisztokémiai jelölés agymetszeten

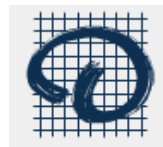
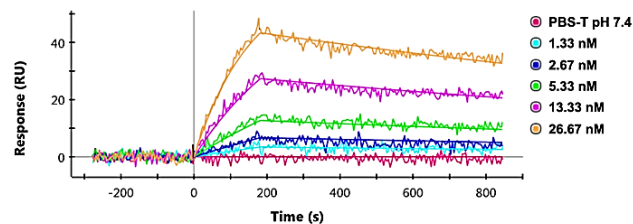


Monoklonális ellenanyag előállítás

Egér típus	Hibridómák száma	CB1 pozitív klónok (IgG)
Balb/c	580	0
<b>bFcRn Tg</b>	<b>1634</b>	<b>10</b>

Nagy affinitású CB1-specifikus monoklonális ellenanyag

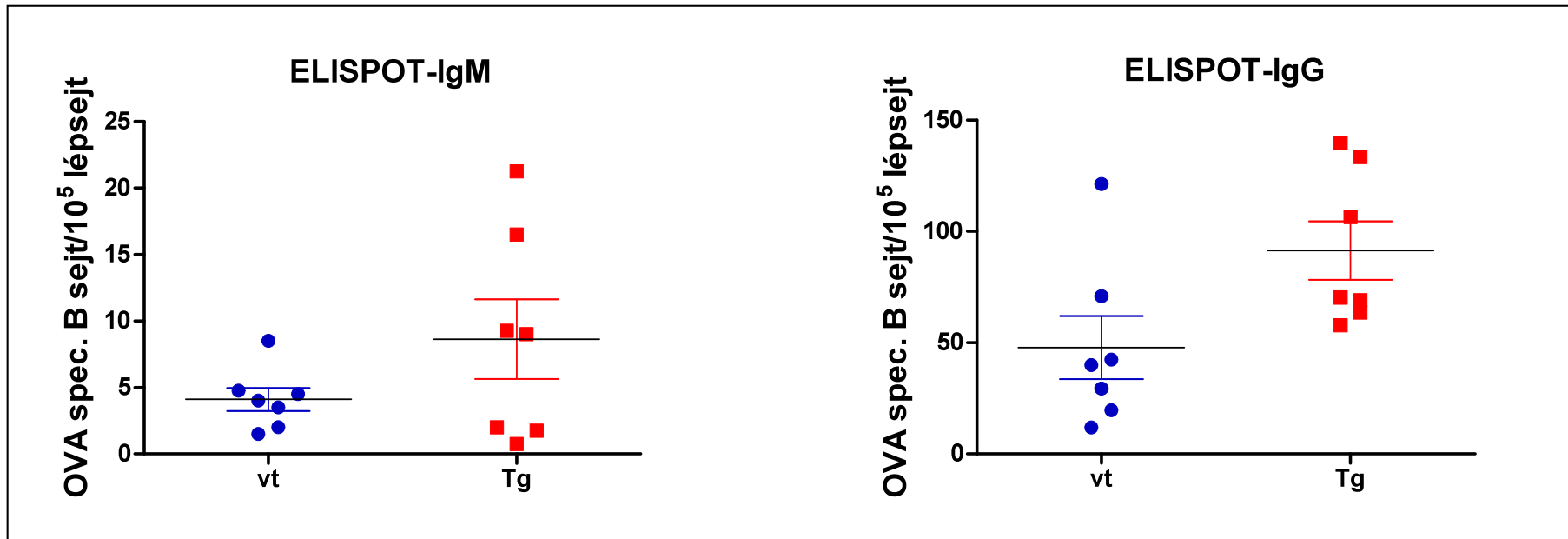
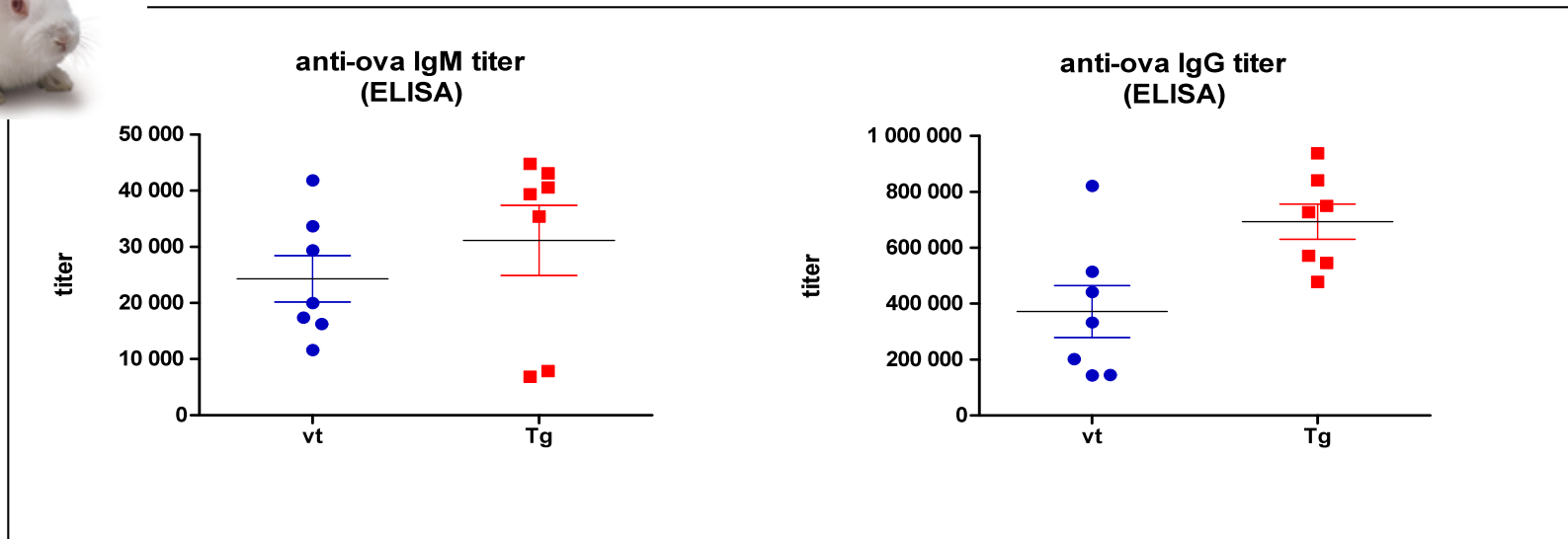
404 (3C2)  $K_d = 1.7 E^{-9}M$



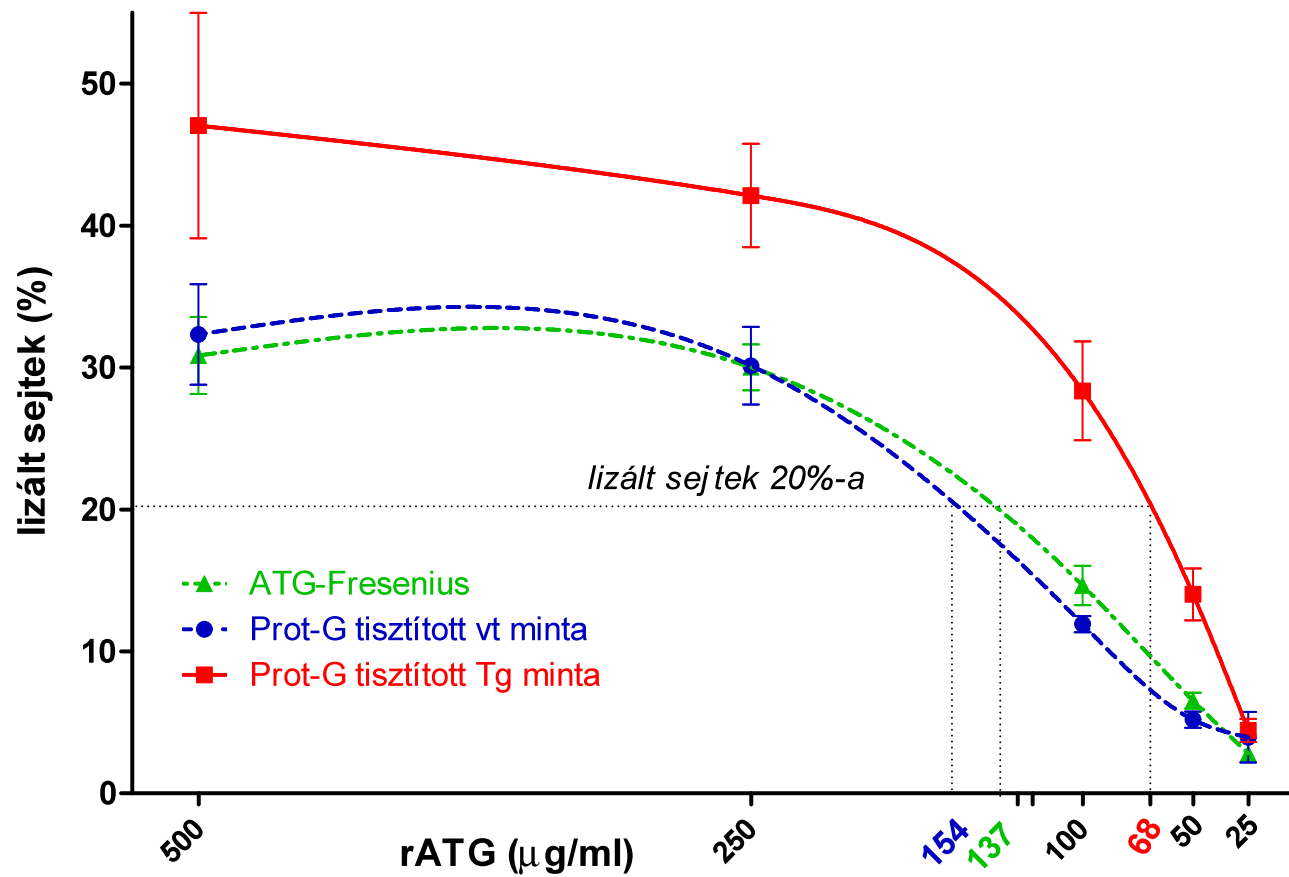
Együttműködés Dr. Katona Istvánnal (MTA, KOKI)



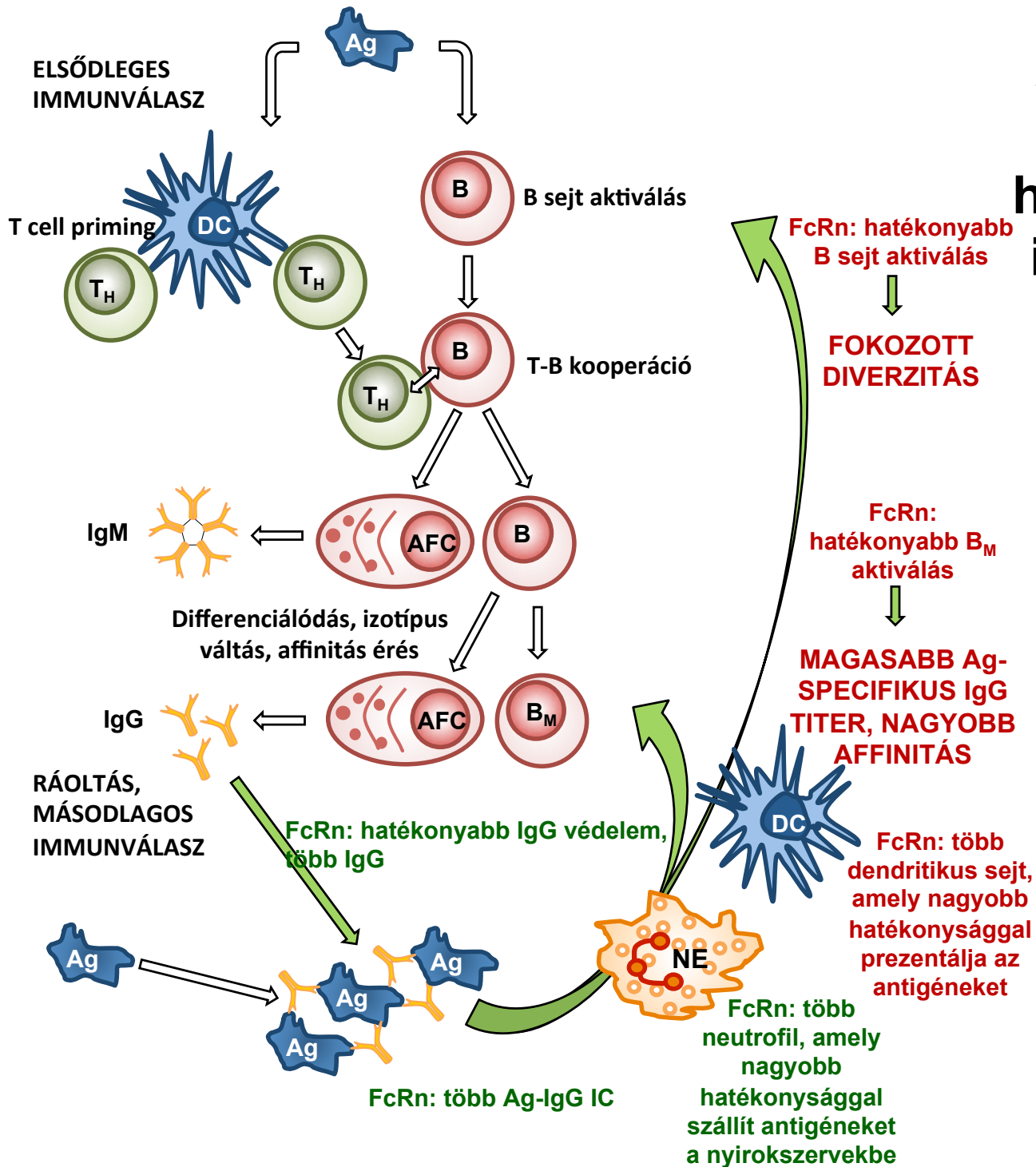
# Nyúl FcRn Tg nyúl fokozott immunválasza



# FcRn Tg nyulak több (4x) humán T-sejt specifikus poliklonális ellenanyagot (rATG) termelnek



# Az FcRn fokozott kifejeződésének hatása a humorális immunrendszerre





## **Az FcRn-t fokozott mértékben kifejező Tg egerek és nyulak jellemzői:**



- (1) csökken az antigén(Ag)-specifikus IgG lebomlása***
- (2) fokozott mértékű az Ag-specifikus humorális immunválasz; nagyobb lép és a benne lévő Ag-specifikus immunsejtek száma jelentősen emelkedik***
- (3) a gyengén immunogén Ag ellen is megfelelő mértékű specifikus immunválasz alakul ki***
- (4) az immunválasz ellenanyag diverzitása fokozódik***
- (5) a lépsejtekből jelentősen nagyobb számú hibridóma állítható elő***
- (6) nem alakul ki autoimmunitás***



---

**Creating Transgenic Animals for Quality Antibodies**

---

**Köszönöm a figyelmet!**



eGFP transzgénikus sertések – Prof. Bruce Whitelaw - Roslin Institute, UK, 2007

# ÉLŐ ADÁS

előadások a biológia világából



Tamás László

„Molecular farming” – mi mindent termelnek  
a transzgénikus növények?

2013. november 6. 18.00

ELTE TTK Déli Tömb fszt., Kitaibel Pál terem (0-823)

Budapest, XI. kerület, Pázmány Péter sétány 1/c.





# ÉLŐ ADÁS

előadások a biológia világából



Müller Viktor

A HIV múltja és jövője – honnan jött és hová tart?

2013. december 4. 18.00

ELTE TTK Déli Tömb fszt., Kitaibel Pál terem (0-823)

Budapest, XI. kerület, Pázmány Péter sétány 1/c.

