

Póster

Comparación de la biosimilitud de anticuerpos monoclonales mediante ensayos de afinidad "in vitro"



Noelia Camacho¹ y Lorena Palacios²

¹Master en Biotecnología Sanitaria, Universidad Pablo de Olavide, 41013 Sevilla, SPAIN.

²Departamento de I+D, Curaxys, Parque Tecnológico Tecnobahía, 11500 El Puerto de Santa María (Cádiz), SPAIN.

Palabras clave: FcγR; ensayo de afinidad; citometría de flujo

RESUMEN

Motivación: Los anticuerpos monoclonales se utilizan en terapia contra diversas enfermedades. En los próximos años expiran las patentes de algunos de estos medicamentos biológicos, propiciando el desarrollo de los denominados biosimilares. Estos están producidos por fabricantes diferentes a los del producto de referencia, utilizando nuevas líneas celulares y procesos. Para determinar la biosimilitud de ambas moléculas "in vitro" se utilizan varios ensayos, entre los que se encuentran los ensayos de afinidad, tanto de la fracción variable del anticuerpo (Fab) por su ligando, como de la fracción cristizable (Fc) por los receptores FcR del sistema inmune (1).

Los receptores y de la fracción Fc de anticuerpos monoclonales IgG, o FcγRs, son proteínas que se encuentran en la superficie de células del sistema inmune, siendo muy importantes en la respuesta inmunológica (2). La función más importante de los FcγRs es la regulación de las respuestas celulares, debido a las cascadas de señalización que desencadenan cuando se activan. Además pueden realizar diversas funciones (2,3), por ejemplo, la captación de complejos inmunológicos, su degradación y el direccionamiento de los péptidos antigénicos hacia la ruta de presentación de antígenos. El objetivo del estudio es determinar la afinidad que presentan un anticuerpo monoclonal candidato a biosimilar y el correspondiente producto de referencia a los receptores FcγRI y FcγRII.

Métodos: Se realizan ensayos de afinidad de la fracción Fc utilizando una línea celular que expresa los receptores FcγRI y FcγRII en su membrana, mediante citometría de flujo. En primer lugar, se incuban las células con el anticuerpo primario, el anticuerpo monoclonal de interés y el de referencia, a diferentes concentraciones. Seguidamente, se incuban con el anticuerpo secundario conjugado con el fluoróforo, realizando el estudio por citometría de flujo y analizando los resultados estadísticamente.

Resultados: Se define un rango de concentraciones, entre 10 y 0,1 µg/ml, para obtener la curva de saturación de la afinidad de la fracción Fc por los receptores FcγRI y FcγRII. A partir de esta curva, conocemos los datos de la Kd y Bmáx para ambas moléculas, comparándolas mediante un tratamiento estadístico.

Conclusiones: A la vista de los resultados obtenidos, no existen diferencias estadísticamente significativas entre el anticuerpo de interés y el de referencia en relación con la afinidad "in vitro" por los receptores FcγRI y FcγRII.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Alice Harrison, Zhe Liu, Schona Makweche, Kevin Maskell, Hong Qi, Geoff Hale. (2012) Methods to measure the binding of therapeutic monoclonal antibodies to the human Fc receptor FcγRIII (CD16) using real time kinetic analysis and flow cytometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 63, 23–28.
- (2) Sabrina Lisi, Margherita Sisto, Dario Dominico Lofrumento, Simona D'Amore, Massimo D'Amore. (2011) Advances in the understanding of the Fc gamma receptors-mediated autoantibodies uptake. *Clinical and Experimental Medicine*, 11, 1–10.
- (3) Toshiyuki Takai. (2005) Fc receptor and their role in immune regulation and autoimmunity. *Journal of Clinical Immunology*, 25, 1-18.