

M U N I
S C I



Enantis

VÝVOJ STABILNÍCH FGF MOLEKUL A JEJICH VYUŽITÍ V REGENERATIVNÍ MEDICÍNĚ

Radka Chaloupková

Ústav experimentální biologie, PŘF MU

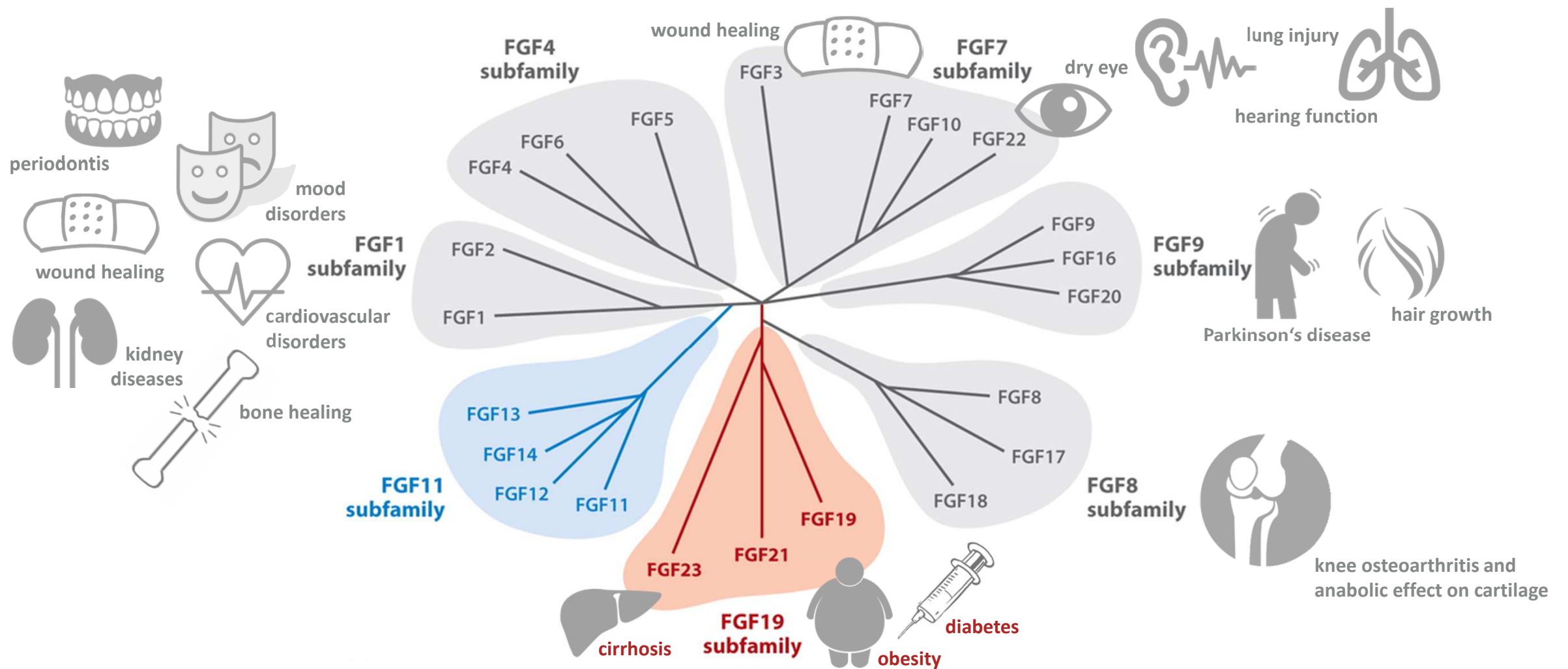
Enantis s.r.o.

FGFs

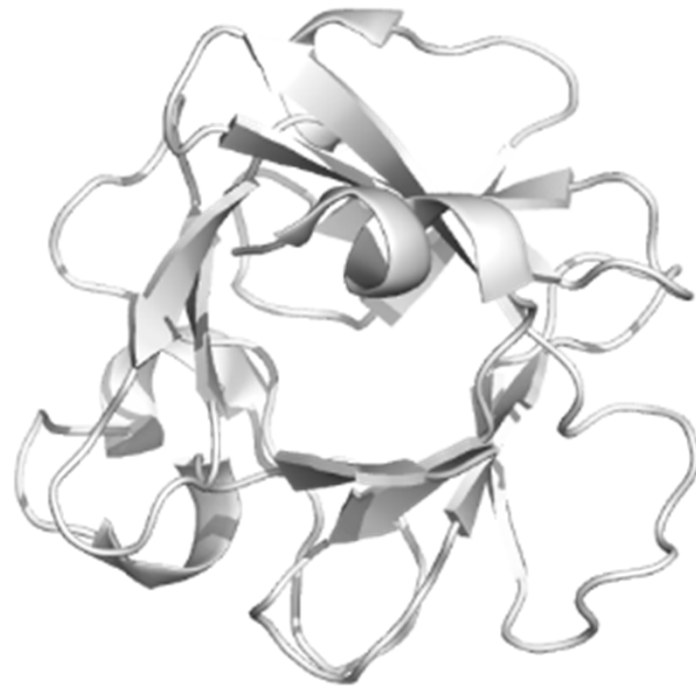
fibroblastové růstové faktory

- stimulují růst fibroblastů
- důležité pro prenatální vývoj, postnatální růst a regeneraci tkání
- podpora angiogeneze a organogeneze, obnovování tkání a fyziologii organismu
 - 22 FGFs rozdělených do 7 podrodin
 - 15 FGFs interaguje s heparinem/heparan sulfáty a FGF receptory (FGFR)

FGFs

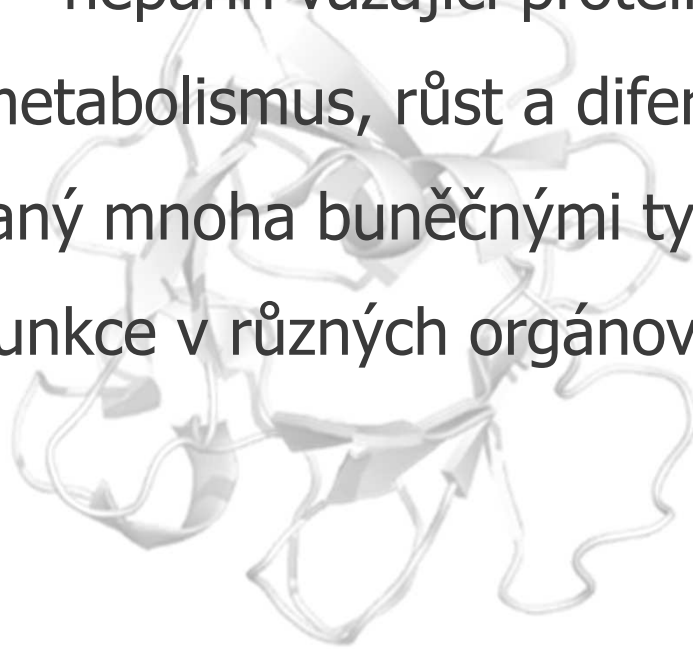


FGF2



FGF2

- heparin vázající protein
- ovlivňuje metabolismus, růst a diferenciaci buněk
 - produkováný mnoha buněčnými typy a tkáněmi
- biologická funkce v různých orgánových systémech



FGF2

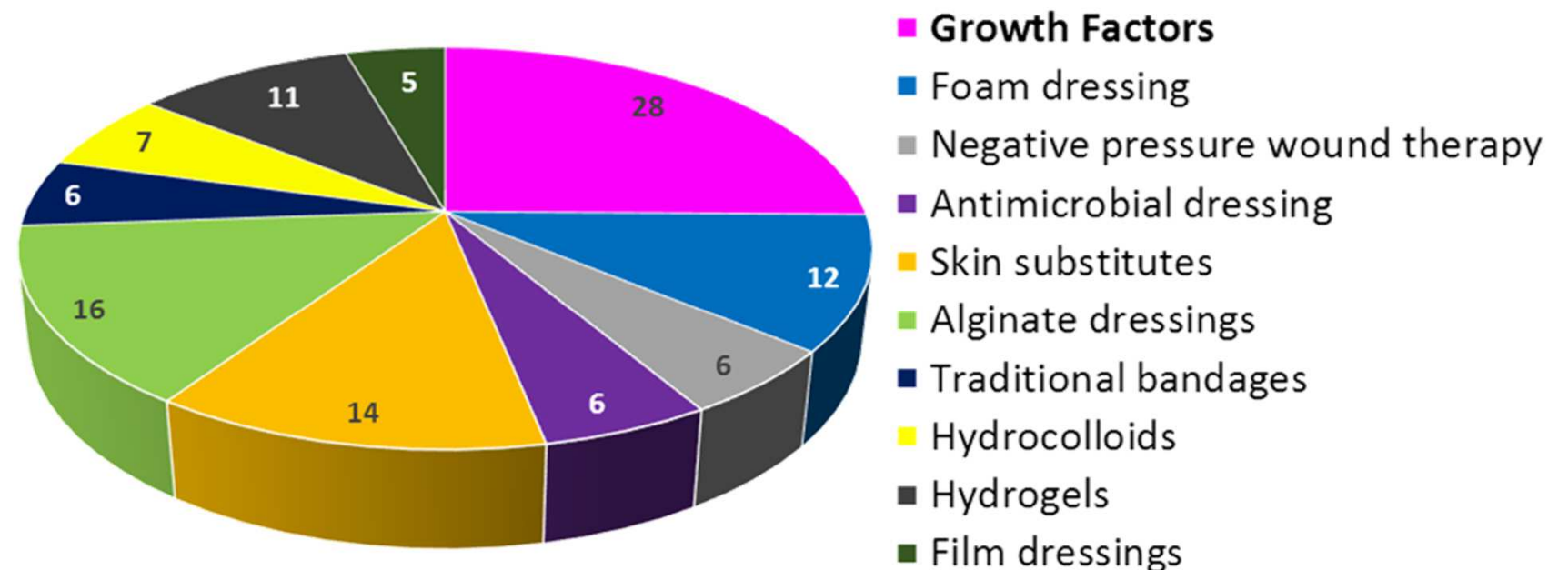
- heparin vázající protein
- ovlivňuje metabolismus, růst a diferenciaci buněk
 - produkováný mnoha buněčnými typy a tkáněmi
 - biologická funkce v různých orgánových systémech
 - vysoký praktický potenciál pro regenerativní medicínu
- nepostradatelná složka médií pro kultivace kmenových buněk
 - atraktivní kosmetická ingredience

FGF2

v hojení chronických i akutních ran

atraktivita léčebných terapií založených na růstových faktorech stoupá

Složená roční míra růstu (CAGR)
2013-2020



FGF2

limitace

nízká stabilita



FGF2

limitace

nízká stabilita

rychlý pokles
biologické aktivity
v 37°C ($t_{1/2} < 12$
hodin)

potřeba vyšších
dávek zvyšuje
riziko nežádoucích
vedlejších účinků

vyšší riziko
denaturace při
přípravě finální
formulace

vyžaduje speciální
podmínky pro
skladování a
transport

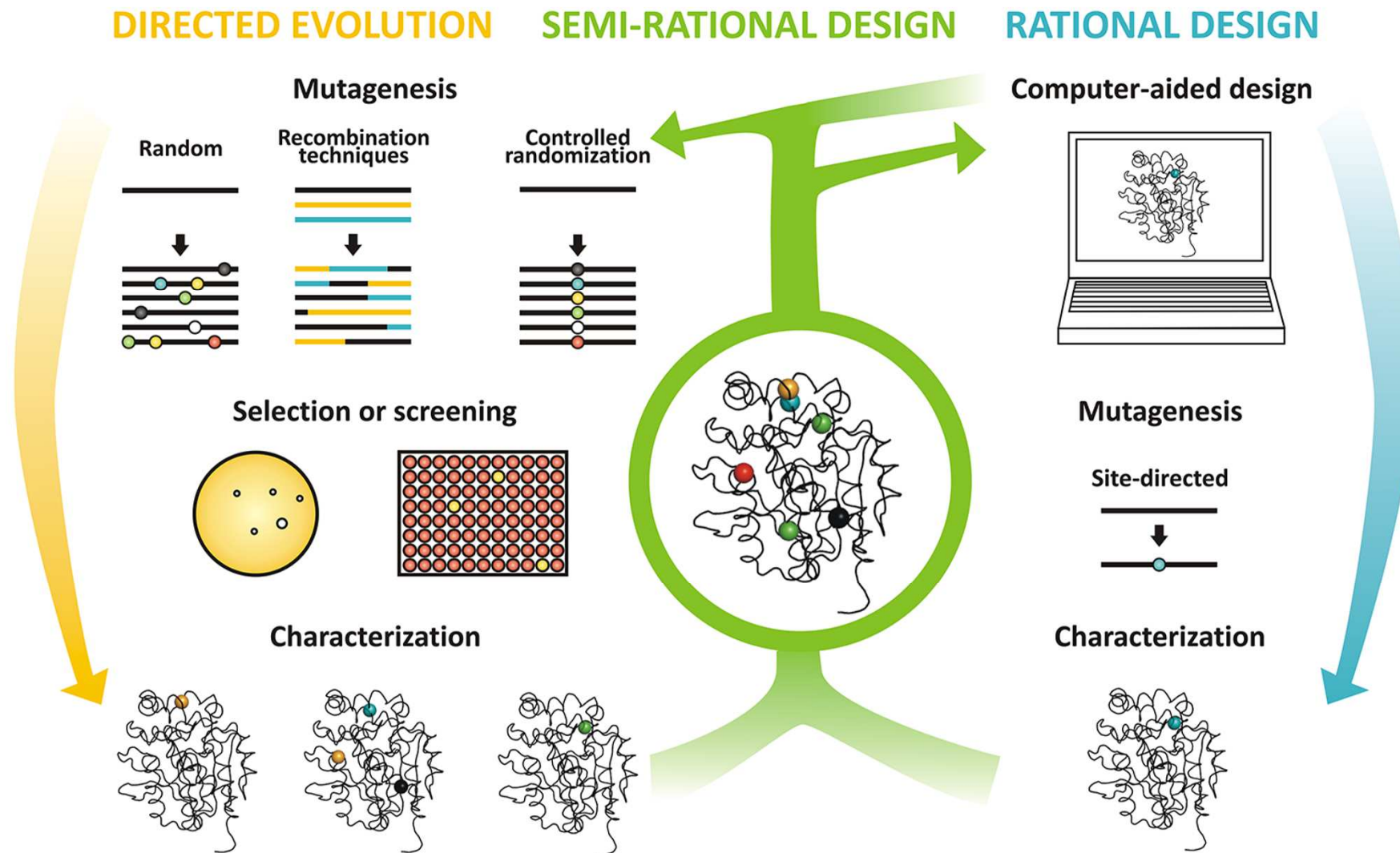


FGF2

proces stabilizace

- proteinové inženýrství

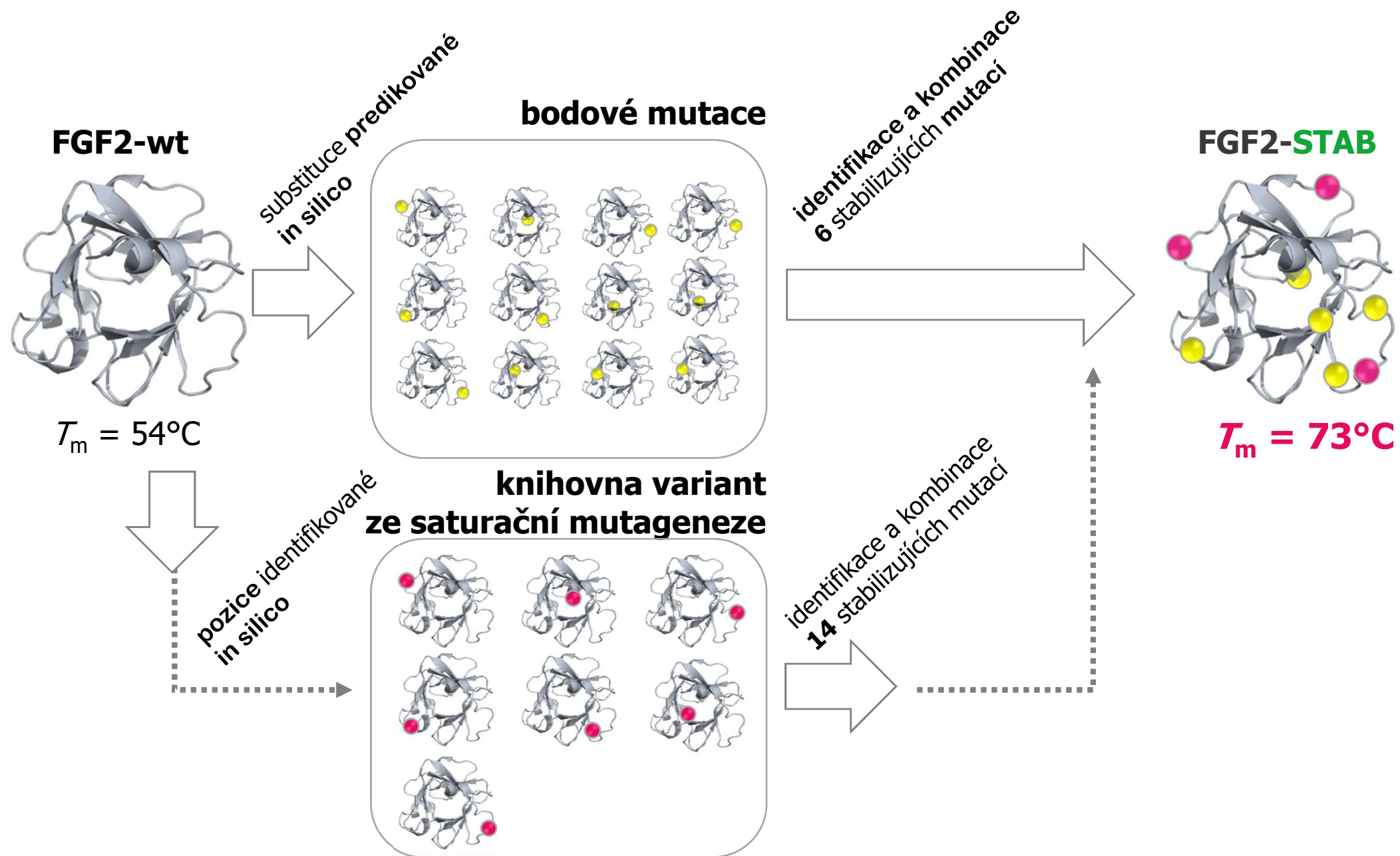
Proteinové inženýrství



FGF2

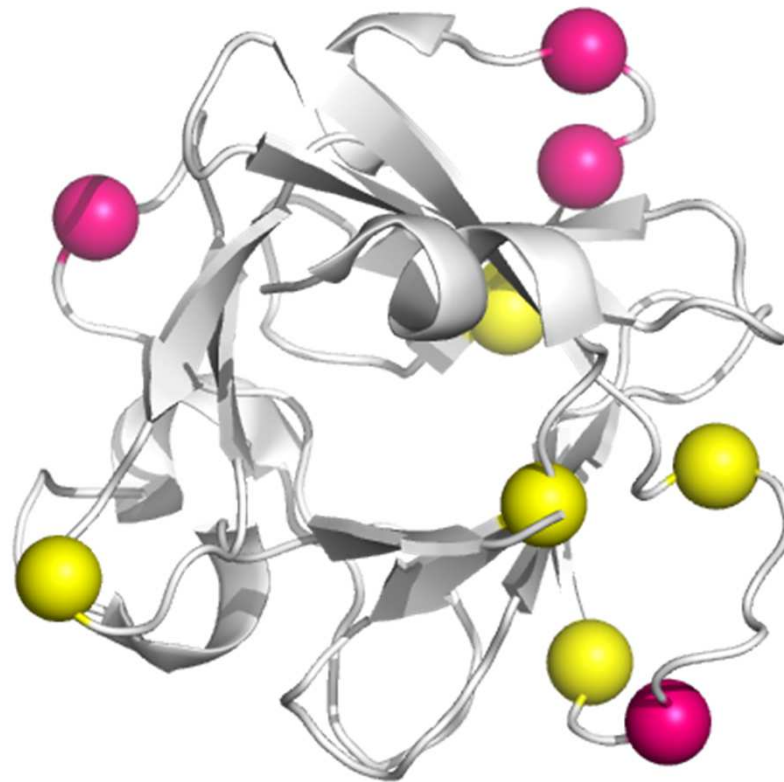
proces stabilizace

- proteinové inženýrství
 - in silico design potenciálně stabilizujících mutací
- kombinace evolučních a energetických přístupů stabilizace proteinů
 - konstrukce mutantů: místně cílená a saturační mutagenese
 - rychlejší způsob stabilizace ve srovnání s řízenou evolucí
 - nižší nároky na screening a charakterizaci variant



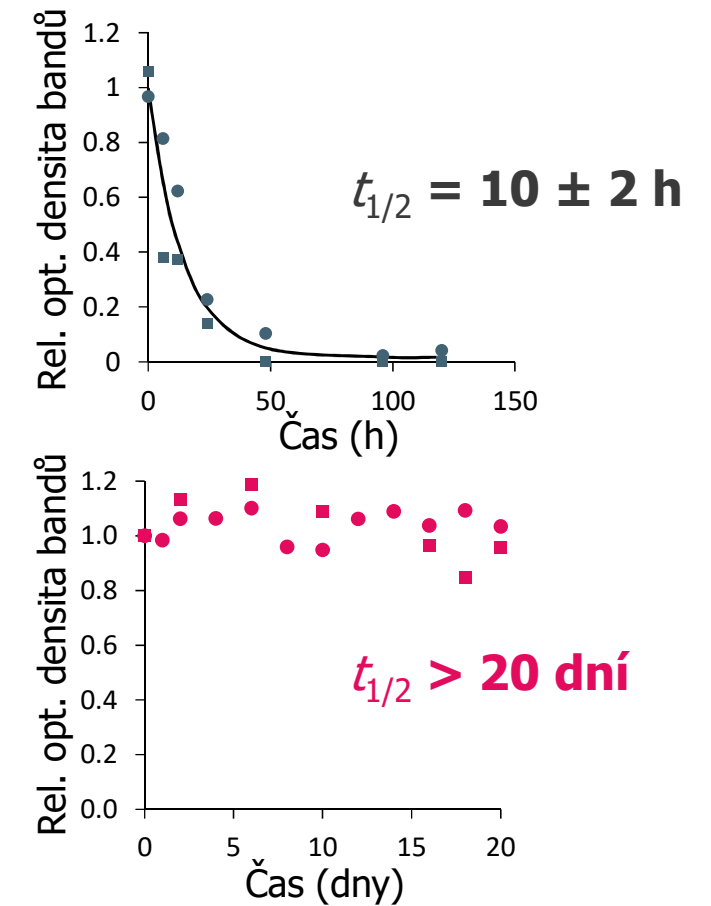
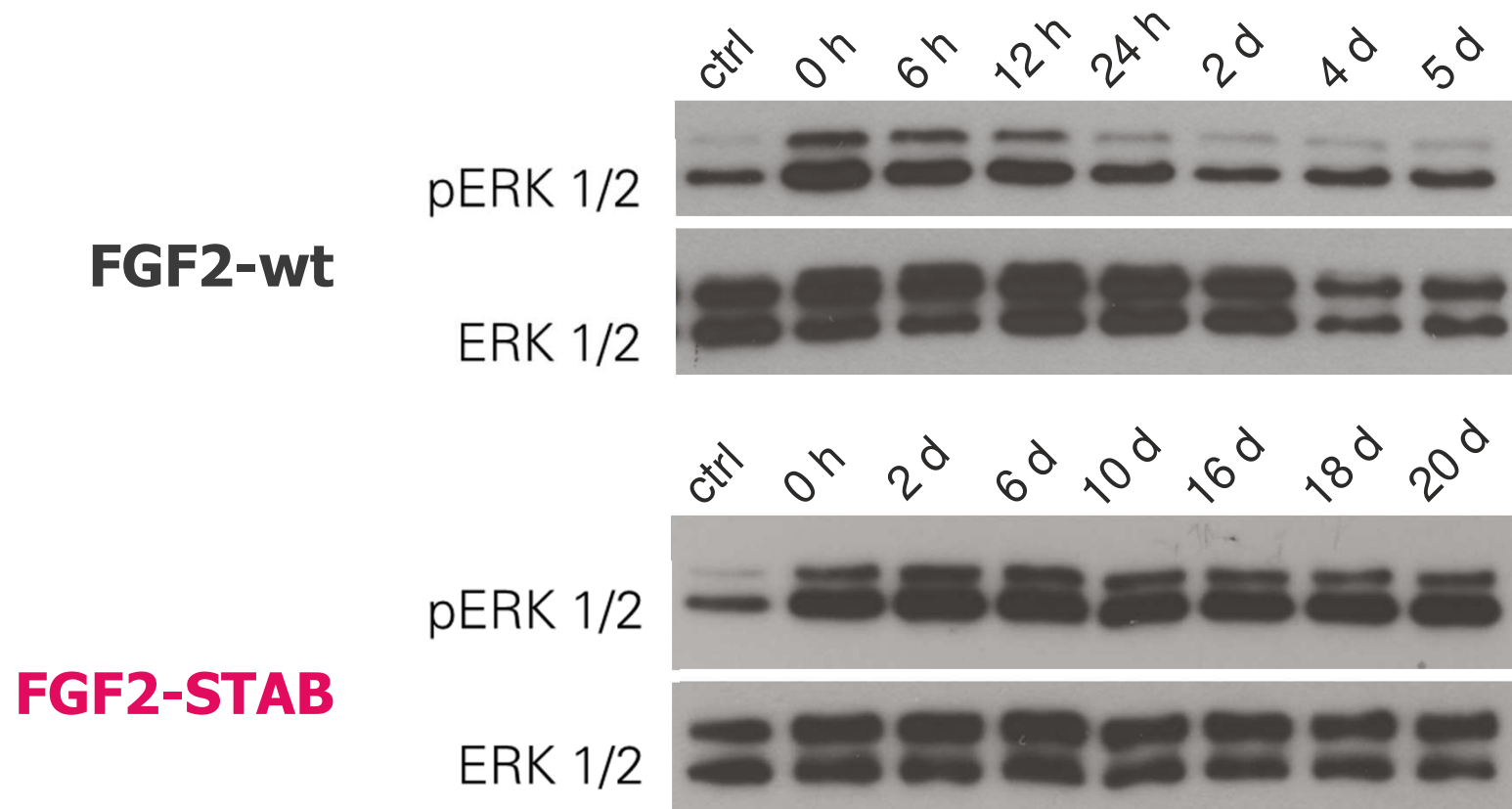
FGF2-STAB

charakterizace



FGF2-STAB

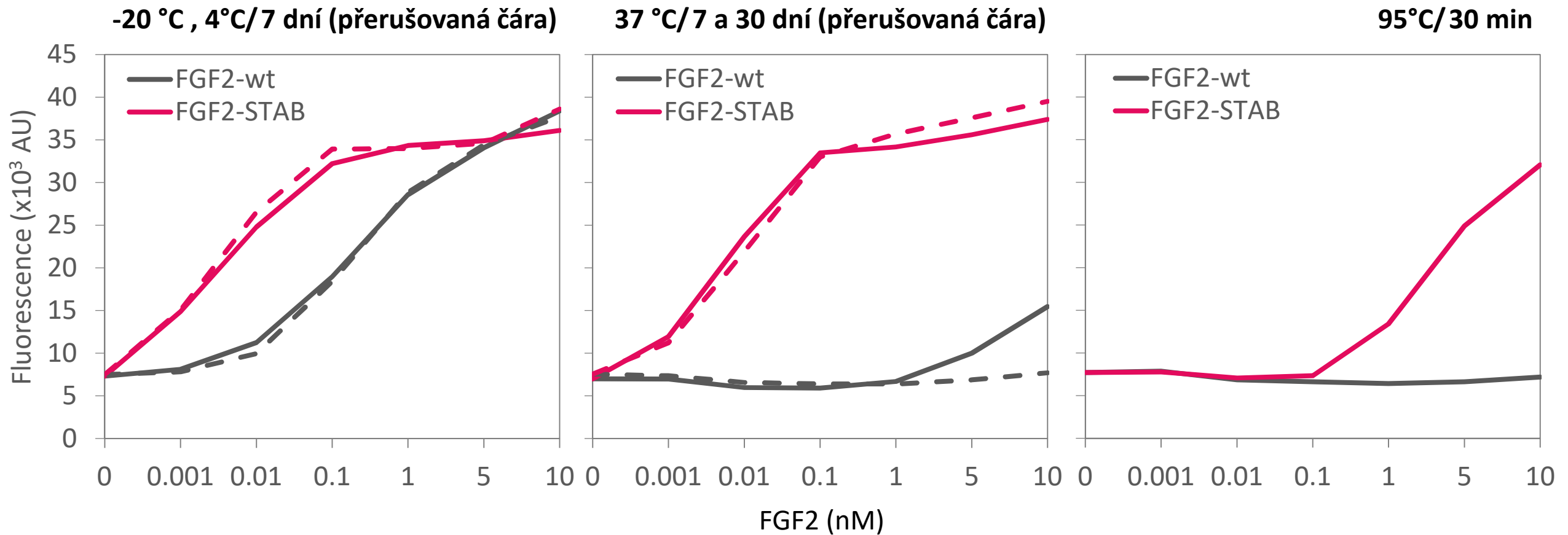
>**40x** prodloužený poločas života při 37 °C



ERK aktivace, lidské embryonální kmenové buňky (CCTL14)

FGF2-STAB

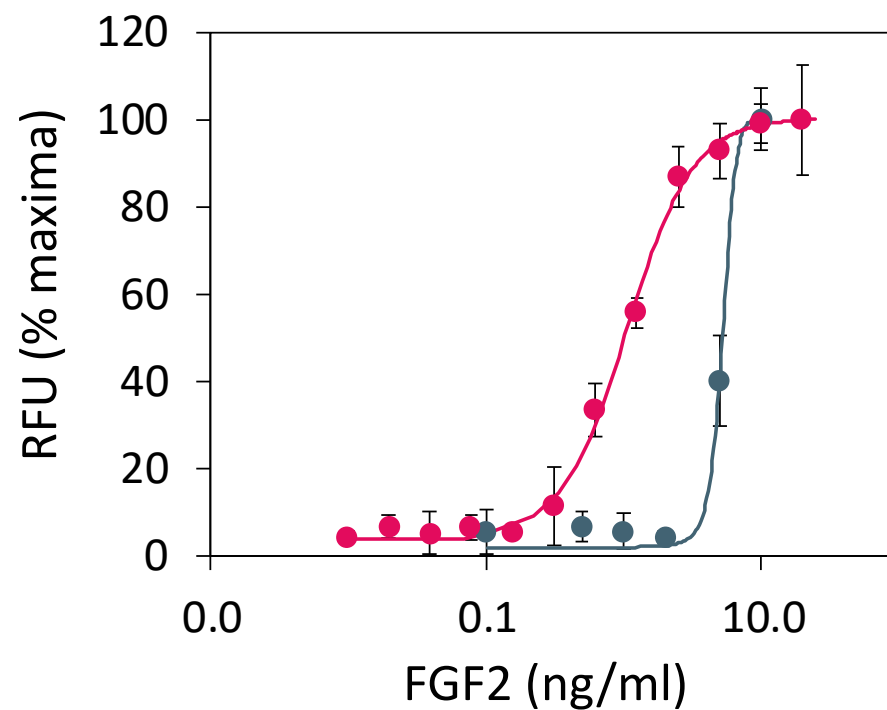
zvýšená stabilita *in vitro*



buněčná proliferace (myší B-lymfocyty, buněčná linie BAF3 exprimující FGFR2c receptor)

FGF2-STAB

biologická odpověď vyvolaná nižší dávkou



FGF2-wt

ED₅₀ = **5.0 ng/ml**

FGF2-STAB

ED₅₀ = **1.1 ng/ml**

buněčná proliferace (myší fibroblasty NIH/3T3)

FGF2-STAB

vývoj formulace a identifikace vhodného nosiče

- forma spreje
 - vlhké terapeutické krytí (Hcel[®] NaT, Holzbecher s.r.o.)
- inkorporace do topického hydrogelu (CMC hydrogel, spolupráce s CEITEC-VUT)



FGF2-STAB

pilotní testy efektivity *in vitro* a *in vivo*

- in vitro „scratch test“ (migrace fibroblastů z myší mléčné žlázy)
- zvířecí model chronické rány (imbrední kmen diabetický potkanů ZDF, spolupráce s Biomedicínským centrem, LF UK Plzeň)
 - podpora migrace fibroblastů v kratším čase a nižších koncentracích
- zvýšená proliferace a angiogeneze + nižší zánětlivá reakce v ráně než FGF2-wt

FGF2-STAB

benefity

- nejstabilnější varianta FGF2 s nezměněnou biologickou aktivitou
- dosažení terapeutického účinku v nižší koncentraci a s nižším počtem dávek
 - potenciál lepšího terapeutického účinku
 - vyšší pohodlí pacienta
 - nižší cena léčby

FGF2-STAB

shrnutí



FGF2-STAB
stabilizovaná varianta
FGF2 s plně zachovanou
biologickou aktivitou



vysoký aplikační
potenciál pro regenerativní
medicínu (hojení ran), právě
probíhá vývoj formulace
a testování efektivity



právě probíhá
stabilizace dalších 5 FGF
proteinů s využitím
racionálního a
semiracionálního designu

Kontakt:

Radka Chaloupková

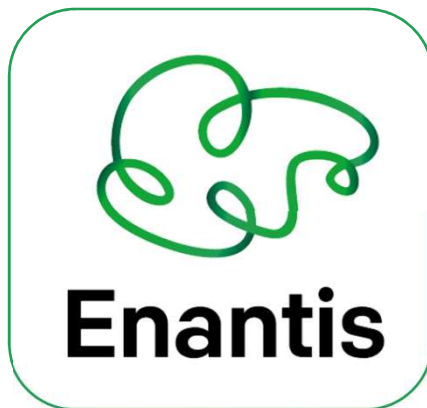
e-mail: radka@chemi.muni.cz



Prof. Jiří Damborský



doc. Lucy Vojtová



Enantis



Prof. Petr Dvořák
Dr. Pavel Krejčí
Dr. Zuzana Koledová
doc. Břetislav Lipový



Dr. Lucie Vištejnová
Dr. Pavel Klein



Dr. Martin Faldyna

