

Título: **Avaliação da Expressão Transitória de Anticorpos Monoclonais anti-CD20 Desenvolvidos em Bio-Manguinhos**

Autor: **Larissa Araujo Duarte**

RESUMO

O câncer é uma doença multifatorial que apesar dos recursos dedicados a prevenção, controle e terapias, continua afetando milhões de pessoas no mundo. O linfoma é um câncer sanguíneo derivado dos linfócitos que variam significativamente em sua gravidade e está entre os 15 cânceres mais incidentes no mundo. Estes podem ser apresentados em duas categorias diferentes: o linfoma de Hodgkin (LH) e linfoma-não-Hodgkin (LNH). Em 1997 o Rituximabe (Mabthera,Roche) foi o primeiro anticorpo monoclonal aprovado para o tratamento de LNH. O Rituximabe mudou as práticas no tratamento de pacientes, sendo utilizado como imunoterapia ou em combinação com quimioterapia. Com o fim da patente, novos anticorpos anti-CD20 vem sendo desenvolvidos. Neste trabalho propomos a avaliação de novas construções de anti-CD20, um biosimilar ao Rituximabe e duas construções de *biobetter*. Os produtos obtidos nos ensaios de transfecção transitória em células HEK e EXP1293F foram primeiramente quantificados por ELISA. Em seguida foi realizado o *western Blot* para avaliação da estrutura dos anticorpos. E por fim, utilizamos a citometria de fluxo para avaliar a ligação dos anticorpos ao antígeno CD20. Os resultados do ELISA demonstraram que a utilização do sistema de expressão transitória EXP1293F foi mais eficiente que a utilização do sistema tradicional com células HEK. Utilizamos diversas metodologias para quantificação dos anticorpos, no entanto para definir a metodologia como padrão de quantificação recomenda-se a padronização e a validação. As análises de *western blot* demonstram similaridades entre as cadeias leves e pesadas dos nossos anticorpos em relação ao Mabthera, com um pequeno aumento no peso molecular da cadeia pesada das construções de *biobetter*, conforme o esperado, devido a presença do ligante de NKG2D. A ligação do anticorpo ao antígeno CD20 presente nas superfícies das células K562-CD20, se mostrou satisfatória e similar ao padrão de ligação do Mabthera. Concluimos que a utilização do kit Expi 293F apresentou melhor resultado, contudo é recomendável a otimização das condições de transfecção para conseguir um melhor rendimento, e permitir a realização dos ensaios de atividade biológica.