

CNRC-NRC

LES JOURNÉES DE L'IRB 1992

4 et 5 MAI

BRI DAYS 1992

MAY 4th and 5th

PROGRAMME
PROGRAM

Canada

Les Journées de l'IRB 92 BRI Days '92

P17 BRINGING A CANCER THERAPEUTIC TO MARKET, PART 2: PREPARATION OF CLINICAL GRADE CHIMERIC ANTIBODIES FROM CELL CULTURE

S. Overgaard, R. Duguay, C. Bigras, T. Carriero, P. Chabot, A. Labonté, S. Lachance, F. LeBlanc and C. Parent. Biomira Inc. The profitable commercialization of a biopharmaceutical for *in vivo* applications is a complex process involving a multitude of steps and the combined efforts of many people including scientists and engineers as well as technical, regulatory and Quality Control (QC)/Quality Assurance (QA) specialists.

A team was established by Biomira Inc., to develop a process for the production and purification of chimeric antibodies, destined for clinical studies, at the Pilot Plant/BRI facilities. Following clone selection, much preproduction work focused on medium development and the concomitant design and scale-up of a production and purification process. Of most importance was the identification of a process that would ensure the production of antibody in sufficient quantities and at a high level of purity.

An integral part of process development pertained to the regulatory and QC/QA aspects of commercial biopharmaceutical production. Quality control and assurance must be built into the process from the onset. In order to meet the stringent regulatory requirements set by FDA/HPB, extensive testing, characterization, validation and documentation will occur at every step of the production process.

The chimeric antibody must first pass through a series of clinical trials before it will find its way to the market place, which typically may take as many as 5 years from the time that it was originally constructed.

P19 INFLUENCE DE CERTAINS FACTEURS PHYSIOLOGIQUES SUR LA PRODUCTION DE L'ANTIGÈNE PRÉ-S2 DU VIRUS DE L'HÉPATITE B PAR *HANSENULA POLYMORPHA*

M.R. de Roubin, M.D. Cailas⁽¹⁾, S.-H. Shen et D. Groleau
(1) University of Illinois at Chicago, School of Public Health, Chicago ILL

Une optimisation partielle du milieu de culture pour la production de la protéine pré-S2-HBsAg par *Hansenula polymorpha* a été réalisée en flacons agités en utilisant la technique des plans d'expérience ("experimental design"). Ce travail a abouti aux conclusions suivantes: (1) Les deux sources d'azote (NH₄Cl et extrait de levure) sont nécessaires pour obtenir une production optimale d'antigène; (2) le pH doit être maintenu à 6; à pH inférieur, la protéine subit une dégradation rapide, vraisemblablement de nature protéolytique; (3) la présence de phosphate inorganique dans le milieu de production a un effet négatif sur le rendement en antigène. Cette étude a abouti à une augmentation de 45% de la production d'antigène dans un milieu où la concentration en extrait de levure n'est que 2%. La validité de ces nouvelles conditions à l'échelle d'un fermenteur de deux litres est à l'étude.

Une partie de la protéine produite est trouvée dans l'"espace périplasmique", le reste dans la cellule. On a montré que la protéine périplasmique est sous la forme de particules de 22nm de diamètre similaires à celles issues du sang humain.

Cette étude démontre que la levure *Hansenula polymorpha* peut être un système intéressant pour la production de protéines hétérologues; l'expression de la proinsuline est actuellement à l'étude.

P18 SERVICE D'HYBRIDOMES DE L'INSTITUT DE RECHERCHE EN BIOTECHNOLOGIE

L. Morel et A. Marciel

Le Service d'hybridomes de l'Institut de recherche en biotechnologie existe depuis maintenant 4 ans et demi. Il a été mis sur pieds pour fournir aux chercheurs de l'Institut et de l'extérieur l'expertise de la technologie des hybridomes. Les techniques utilisées et offertes comprennent:

- préparation de l'antigène (couplage, adjuvant)
- immunisation (*in vivo*, *in vitro*)
- fusion cellulaire (hybridomes murins, de rat, de lapin)
- mise au point de technique de dépistage d'anticorps pour divers antigènes (ELISA, dot blot)
- détermination de classes et sous-classes d'immunoglobulines
- dosage d'immunoglobulines
- production de liquide ascite
- purification d'anticorps
- immunofluorescence
- western blot
- immunoprécipitation

P20 PRODUCTION AND SECRETION OF HUMAN PRO-INSULIN BY THE RECOMBINANT YEAST *HANSENULA POLYMORPHA*

P. Domizio, M.R. de Roubin, E. Berardi¹, and D. Groleau.

¹ Università degli Studi di Sassari (Italy).

The human gene for human pro-insulin has been integrated into the chromosome of the methylotrophic yeast *Hansenula polymorpha* strain HEB-8-3. Expression of the pro-insulin gene is under the control of the strong methanol oxidase promoter. *Hansenula polymorpha* is being recognized more and more as a very promising yeast for the production of heterologous proteins of commercial interest. Preliminary research, carried out using either rich or minimal media, and at various initial pH values, has already shown that human pro-insulin was almost totally secreted into the culture medium, which will be of great advantage for its recovery and purification. However, this extracellular pro-insulin appeared to degrade rapidly once maximal growth had been reached. Proteolytic degradation by natural yeast proteases is presently suspected and may explain why pro-insulin yields have been low so far. Our short-term objectives are to increase greatly the stability of the secreted pro-insulin and to maximize pro-insulin production by adjustment of various physiological parameters.