

Protein refoldning, karakterisering og formulering

A. INDLEDENDE OPLYSNINGER	
Indsatsområde	Fremtidens udvikling af protein -og peptidbaserede lægemidler, samt ingredienser
Institut	Bioneer A/S
Titel	Protein refoldning, karakterisering og formulering
Version	1.3
Periode	1.1.2023 – 31.12.2024
Kontaktperson	Hans Mølager Christensen

B. ÆNDRINGER
<p>Aktiviteten fortsættes i 2024.</p> <p>Etablering og afprøvning af sensorsystem til måling af refoldningsopløsningens redox niveau og dioxygen niveau er afsluttet i 2022.</p> <p>Aktiviteterne fortsættes med henblik på at standardisere de resultater fra test af forskellige redox komponenter, samt at skalere de etablerede teknikker og processer.</p>

C. BESKRIVELSE	
MÅL	<p>I denne aktivitet fortsættes udviklingen af teknologiske services indenfor såkaldte down stream processer i forbindelse med produktion af rekombinante proteiner. De overordnede målsætninger med aktiviteten er at:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Udvikle services der kan understøtte det voksende antal danske virksomheder indenfor proteinproduktion • Øge virksomhedernes succesrate fra produceret protein til første produkt <p>Mange farmaceutiske proteiner (lægemiddel-relevante proteiner) udtrykkes på uopløselig form i E. coli som såkaldte "inclusion bodies". Dette sker fordi de på den ene eller anden måde er giftige for bakterierne eller bakterierne ikke besidder de nødvendige hjælpeproteiner eller betingelser for korrekt foldning til opløselige aktive proteiner. Omdannelse af disse proteiner til aktive opløselige proteiner udføres derfor i laboratoriet ved hjælp af refoldning af proteinerne fra "inclusion bodies". Betingelserne for refoldning bliver generelt fundet ved "trial and error" forsøg, altså screeningsforsøg hvor man har prøvet sig frem og testet et stort antal kemiske stoffer og betingelser.</p> <p>Kendte refoldningsbetingelser giver meget ofte lave produktionsudbytter, i størrelsesorden 5 til 10%. De lave refoldningsudbytter gør, at proteinerne til farmaceutisk brug skal produceres i meget store anlæg, ofte på flere tusinde liter, hvilket er meget omkostningstungt for den farmaceutiske industri. Der er derfor et voksende behov for at få etableret tilstrækkelig general viden til at etablere standardiserede strategier for refoldning af proteiner og dermed forbedre proteinudbytterne efter refoldning.</p>
INDHOLD	Formålet er at afprøve forskellige refoldningsbetingelser for at finde frem til nogle generelle betingelser, der med stor sandsynlighed vil resultere i højt

	<p>udbytte af refoldet protein, samt opbygge det nødvendige erfaringsgrundlag til effektivt at kunne tilbyde danske virksomheder den stærkeste ekspertise indenfor refoldning af rekombinant protein, der udtrykkes som "inclusion bodies".</p> <p>Bioneer har arbejdet med 11 forskellige kemiske komponenter i den første del af aktiviteten.</p> <p>Der arbejdes videre med forståelsen for de enkelte komponents betydning for refoldningsudbyttet og muligheden for at forbedre udbyttet og dermed produktionseffektiviteten.</p> <p>Aktiviteten vil forsætte med to delaktiviteter:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Undersøgelse af redox- og dioxygen niveauernes betydning for dannelse af korrekte disulfidbroer og for refoldningsudbyttet, samt test af forskellige redox komponenter. 2. Standardisering af refoldningsstrategier
AKTØRER	<p>Aktiviteten er forankret i Proteinproduktionsgruppen og involverer eksperter indenfor både produktionsteknologi, proteinkemi og processteknologi. Yderligere forventes der fortsat en interaktion med Bioneers afdeling på Institut for Farmaci i relation til karakterisering og formulering af proteiner.</p>
SAMMENHÆNG MED ANDRE PROJEKTER	<p>Under samme indsatsområde køres en aktivitet indenfor produktionsteknologi ("Udvikling og implementering af standardiserede fed-batch fermenteringsprocesser"), som vil hænge tæt sammen med denne aktivitet, både hvad angår teknik, ekspertise, samt udstyr.</p>
FØLGEGRUPPE	<p>Bioneer forventer at nedsætte en følgegruppe indenfor det første kvartal, som også vil dække aktiviteten under samme indsatsområde, "Fermentering", da repræsentanter fra industri og videninstitutioner vil kunne se disse to aktiviteter som et samlet forløb og et sammenhængende serviceudbud.</p>
FORMIDLING AF RESULTATER	<p>Vidensspredning fra aktiviteten planlægges i overensstemmelse med de overordnede mål i Indsatsområdet, og så vidt muligt sammen med de øvrige aktiviteter, specielt "Udvikling og implementering af standardiserede fed-batch fermenteringsprocesser".</p> <p>I samarbejde med relevante netværks-organisationer såsom Medicon Valley Alliance (MVA), Dansk Biotek, Danish Life Science Cluster etc. vil Bioneer præsentere resultater for danske virksomheder med fokus på både proteinproduktionen og videre processering under down stream fasen. Derudover, vil resultater blive publiceret i danske Life Science fagblade.</p>