

Tisková zpráva

Nová technologie CF LINK pro biokonjugace a zkoumání struktury proteinů díky spolupráci brněnského biotech startupu s Akademií věd

Brno, 3. prosince 2019 -- Spolupráce dvou pražských výzkumných institucí, Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR a Mikrobiologického ústavu AV ČR, a brněnského startupu CF Plus Chemicals, spin-offu z prestižní švýcarské univerzity ETH Curych, přinesla novou technologii CF LINK k cílené biokonjugaci proteinů a také detailnímu zkoumání jejich struktury. Nedávno publikovaná technologie, která je rovněž předmětem patentové přihlášky, umožňuje připravovat selektivně proteinové konjugáty prostřednictvím aminokyseliny tryptofanu a provádět post-translační modifikace aromatických aminokyselin. Kromě toho je možné ji využít jako nástroj mapování povrchové struktury proteinů a zkoumání protein-proteinových interakcí.

Firma CF Plus Chemicals, spin-off ETH Curych, založený v roce 2014, vychází z výsledků téměř desetileté spolupráce skupiny Dr. Petra Beiera z Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR (ÚOCHB) a Dr. Václava Matouška, absolventa skupiny prof. Dr. Antonia Togniho z ETH Curych.

Reagenty založené na cyklických sloučeninách hypervalentního jodu s perfluoralkylovými substituenty, dnes označované souhrnným názvem Togniho činidla, se od svého debutu v roce 2006 staly široce použitelnými a oblíbenými nástroji v organické syntéze, a to především v medicíně pro přípravu nových fluorovaných kandidátů na léčiva. Vhodně tak odpovídají na neustále stoupající zájem o fluorová léčiva ve farmacii. Zatímco na počátku devadesátých let tvořily fluorované molekuly 5 % z celkového počtu registrovaných léčiv, dnes je to již 15 % a u nově schvalovaných terapeutik zhruba 30 %.

Tato rodina chemických sloučenin byla následně rozšířena v roce 2013 v rámci spolupráce ETH se skupinou Dr. Petra Beiera z ÚOCHB o novou generaci patentovaných Togniho činidel, která místo jednoduché CF₃ skupiny přenáší složitější RCF₂CF₂ uskupení.¹ Nová rodina těchto chemikálií sdílí nejen bohatou reaktivitu první generace Togniho činidel, ale především přináší další rozměr díky prakticky neomezené strukturní variabilitě β-substituované tetrafluorethylové skupiny, kterou jsou schopny přenášet na řadu substrátů relevantních v medicíně malých molekul.

V roce 2017 se podařilo rozšířit aplikační potenciál druhé generace Togniho činidel na proteiny.² Vysoká afinita činidel vůči thiolové skupině dovoluje za mírných podmínek provádět selektivní biokonjugaci prostřednictvím cysteinové skupiny za tvorby stabilních konjugátů, jež na rozdíl od maleimidových konjugátů nepodléhají odštěpení nebo thiolové výměně.

Současný vynález^{3,4} navazuje na předchozí poznatky o radikálové povaze reakcí Togniho činidel. V projektu SME Instrument Horizon 2020, podpořeném městem Brnem a ve spolupráci s ÚOCHB a skupinou Dr. Petra Nováka z MBÚ se podařilo ukázat, že Togniho činidla po smíchání s askorbátem sodným, levným, netoxickým a biokompatibilním redukčním činidlem, okamžitě generují β-substituované tetrafluorethylové radikály, které se selektivně připojují na stericky přístupná tryptofanová rezidua proteinu, a to na rozdíl od jiných metod bez použití přechodných kovů.

Pokud jsou na protein připojeny fluoralkylové skupiny s azidovou funkcí, pak je možné následně navázat click reakcí různé funkční skupiny, jako například fluorescenční barviva, radionuklidy či toxin, využitelné pro cílenou onkoterapii a připravit tak příslušné proteinové konjugáty. Popisovaná tryptofan-selektivní biokonjugační metoda nenarušuje disulfidové můstky proteinů a nabízí tak alternativní řešení, kde použití konvenční cysteinové konjugace není možné, například z důvodu nežádoucí thiol-disulfidové výměny. Tuto biokonjugační metodu lze též rozšířit na ostatní aromatické aminokyseliny, a tudíž i na proteiny, které neobsahují tryptofan. S její pomocí tak bylo možné úspěšně modifikovat lidský rekombinantní insulin a připojit k jeho aromatickým aminokyselinám až 7 modifikací a ukázat tak potenciál k post-translační modifikaci proteinů.

Extrémně rychlá povaha této reakce, jež zasahuje prostorově přístupné aromatické aminokyseliny, z ní dělá výhodný nástroj k mapování proteinových povrchů a studium protein-proteinových interakcí. Na příkladu lidské karbonické anhydrázy bylo demonstrováno, že výsledky z povrchového mapování jsou v dokonalé shodě s její publikovanou nativní strukturou.

Togniho činidla druhé generace obsahující RCF_2CF_2 skupiny jsou chráněny celosvětovým patentem vlastněným ETH Zurich a ÚOCHB a tato technologie je exkluzivně licencována firmou CF Plus Chemicals. V kombinaci s novou askorbátovou technologií CF LINK, která je předmětem další patentové přihlášky,⁴ je tak posílena ochrana duševního vlastnictví a tento kombinovaný technologický balíček je v současné době nabízen k sublicencování obchodním partnerům k biokonjugaci diagnosticky a terapeuticky relevantních proteinů/protilátek, přípravě příslušných imunokonjugátů s fluorescenčními barvivy, radionuklidy a ADC-toxiny, post-translační modifikaci proteinů, strukturální proteomice a studiu protein-proteinových interakcí.

Prof. Dr. Martin Fusek, ředitel IOCB Tech: „Základem úspěšných komerčních výstupů z výsledků základního výzkumu je vynikající vědecká práce. V tomto případě se jedná o důležitý výsledek, který je nejen využitelný jako nástroj pro základní výzkum, ale také jako prostředek pro vývoj nových léčiv na bázi proteinů. Unikátností, která by ale měla být spíše pravidlem je to, že projekt byl vytvořen spoluprací dvou akademických a jedno komerčního subjektu. Jsem moc rád, že jsme mohli být, i když malou, součástí celého procesu.“

Dr. Petr Beier, vedoucí výzkumné skupiny při ÚOCHB: „Jsem rád, že se nám daří rozvíjet spolupráci napříč přírodovědnými obory a nalézat průniky organické syntézy a biochemie. Ukazuje se, že specifické vlastnosti fluorovaných sloučenin lze vhodně využít nejen tradičně v medicíně chemii malých molekul, ale nově také pro biokonjugace proteinů a studium jejich struktury. Věřím, že se nám podaří v budoucnu identifikovat další atraktivní využití Togniho činidel v biochemii.“

Dr. Petr Novák, vedoucí výzkumné skupiny při MBÚ: „Díky Togniho činidlům se nám podařilo vnést fluorovanou sondu do struktury bílkovin ve vodném prostředí během několika vteřin. Námí popsanou technologií jsme teď schopni selektivně značkovat bílkoviny pro klinickou diagnostiku nebo ji využít pro nalezení interakčního rozhraní bílkovin s jejich ligandy.“

Dr. Václav Matoušek, ředitel CF Plus Chemicals: „Jsem potěšen, že se nám společně podařilo rozšířit reaktivitu Togniho činidel na aromatické aminokyseliny a aromáty obecně, čímž se otvírá celá řada potenciálních aplikací v proteinovém inženýrství a designu terapeutik založených na proteinech. V současné době hledáme průmyslové partnery z řad etablovaných firem, kteří by využili naši technologii k řešení svých výzev.“

O CF Plus Chemicals: CF Plus Chemicals (www.cfplus.cz) je v roce 2014 založený spin-off ETH Curych se sídlem v Brně, který se zaměřuje se na life-science aplikace fluororganické chemie jak v oblasti malých molekul v medicíně, tak v oblasti velkých molekul, zejména proteinů.

O ÚOCHB: Ústav organické chemie a biochemie AV ČR (www.uochb.cz) je přední mezinárodně uznávaná vědecká instituce, jejímž hlavním posláním je základní výzkum v oblasti chemické biologie a medicíně, organické a materiálové chemie, chemie přírodních látek, biochemie a molekulární biologie, fyzikální chemie, teoretické chemie a analytické chemie. Nedílnou součástí poslání ÚOCHB je přenos výsledků základního výzkumu do praxe. Důraz na mezioborové zaměření výzkumu ústí do řady aplikací v medicíně, farmacii a dalších odvětvích.

O MBÚ: Mikrobiologický ústav Akademie věd České republiky (www.mbucas.cz) představuje největší vědecké pracoviště v České republice zaměřené na fyziologii a buněčnou a molekulární biologii mnoha různých mikroorganismů. Mezi hlavní oblasti výzkumu patří genetika, biochemie, fyziologie a ekologie bakterií, kvasinek a vláknitých hub, mikroskopické řasy a imunologie. MBÚ má také jedinečné postavení v multidisciplinárním výzkumu. Konkrétně se vyvíjí další generace sekvenování, hmotnostní spektrometrie, nukleární magnetická rezonance, elektronová mikroskopie a zařízení pro chov zvířat bez choroboplodných zárodků s ohledem na základní výzkumné otázky a jejich budoucí praktické využití v medicíně a průmyslu.

Reference:

- 1) V. Matoušek, J. Václavík, P. Hájek, J. Charpentier, Z. E. Blastik, E. Pietrasiak, A. Budinská, A. Togni, P. Beier, *Chem. Eur. J.* **2016**, 22, 417–424.
- 2) J. Václavík, R. Zschoche, I. Klimánková, V. Matoušek, P. Beier, D. Hilvert, A. Togni, *Chem. Eur. J.* **2017**, 23, 6490–6494.
- 3) K. Rahimidashghoul, I. Klimánková, M. Hubálek, M. Korecký, M. Chvojka, D. Pokorný, V. Matoušek, L. Fojtík, D. Kavan, Z. Kukačka, P. Novák, P. Beier, *Chem. Eur. J.*, **2019**, přijatý rukopis. doi:10.1002/chem.201902944, patentová přihláška EP 19172756.9.
- 4) patentová přihláška EP 2982672 A1, udělený US patent 10,040,812 B2

Kontakt pro média: info@cfplus.cz, Dr. Václav Matoušek, +420 606 117 375