

實創國際生技股份有限公司

開發鎇-99m標幟Annexin V核醫顯影劑-用於偵測活體細胞凋亡

●計畫執行目標

完成下列各項產品及技術之開發:

- 1.生產純化關鍵主原料：人重組 Annexin V衍生蛋白
- 2.建立標幟放射核種鎇99m技術及其配方
- 3.完成偵測活體細胞凋亡藥物動物篩選平台
- 4.建立五公升發酵大腸桿菌生產表達重組蛋白之技術

平台另開發完成的技術平台如發酵量產方式亦可提供技術服務且未來亦可用來研發其他新產品項目，對公司營運有絕對的幫助。

●新產品簡介

項目	種類	用途
1	重組人Annexin V衍生蛋白	作為直接標定放射性核種鎇-99m之原物料
2	鎇-99m-annexin V衍生蛋白	偵測活體細胞凋亡之核醫顯影劑

●計畫創新重點

實創國際生技自行開發重組人之Annexin V衍生蛋白原物料，探討直接標幟放射性鎇99m之適當化條件並於建立老鼠腫瘤模式中進行追蹤活體內細胞凋亡，以開發核醫細胞凋亡顯影劑。

以往核醫顯影劑的開發製程皆須繁瑣的化學標幟流程。本計畫突破以往常用的間接標幟流程，直接建立生產的重組人Annexin V衍生蛋白配方與購入的新鮮鎇99m混合後即可使用。生產此合適的重組人Annexin V衍生蛋白配方即可相當簡化傳統的化學標幟之製程並減少化學藥品的使用與降低生產費用及時間；因此，直接有效率的開發製程技術的建立將可取代傳統繁瑣的間接化學標幟製程來開發核醫顯影劑，並且此新產品更將有經濟價格優勢。

重組人Annexin V放射顯影在臨床醫療的用途：目前本計畫所開發的產品可應用於動物活體實驗細胞凋亡之研究市場，因此建置完成後產品可馬上進入活體動物核醫實驗市場。動物實驗方向包括(1)器官移植排斥(2)腦部缺氧-缺血性傷害的早期診斷(3)癌症治療(4)心力衰竭(heart failure)、心肌梗塞(myocardial infarction)、冠心病(coronary disease)和動脈硬化(atherosclerosis)、病毒感染性和自體免疫性心肌炎(myocarditis)及心肌疾病(cardiomyopathies)(5)骨質疏鬆症(osteoporosis)是一個廣

泛的健康問題等與細胞凋亡有關的研究方向。

●公司研究發展能量及研究發展制度之效益說明

在建構質粒時，公司的研發團隊一共設計將近十個衍生物蛋白，雖然在中期和合作單位長庚大學的研究室人員討論後，先選取部分較有潛力的衍生物蛋白來進行後端實驗，不過當後續的活體動物篩選平台建構的更完善，這些前端產物也將都會嘗試進入後端的實驗，期許在更多的候選者當中找到更好的標地物，而當產品更加成熟後對於許多的醫學運用，如人體器官移植排斥之監測及篩選腫瘤治療藥物的臨床前試驗等等，希望有更進一步的幫助和進展，因此公司的研發團隊也會更加努力的讓這產品有更好的展望。

在公司的內部管理上，大致是延襲當初的實驗室架構去執行運作，不過在面對一些公司營運的實際面時也產生一些需要調整的狀況，目前研究發展制度的建立在公司方面還是較欠缺的，因此這部分公司的內部會再開會討論。

●人才培訓及運用效益

在計畫的進行當中，一開始的專利查詢及相關的資訊收集，讓人員對此產品的使用方向有更明確的了解，對此過程中所經歷的查詢、閱讀作業對後續的研究方向及自身資訊收集的訓練也有另一層次的幫助，接下來的實驗進行，除了人員原本較熟悉的選殖誘導純化系統外，發酵量產的學習也是一個重要的過程，爾後產出蛋白後續的追蹤分析更是產業上很注重的一環，為了維護產品原物料的可用性，公司的研發團隊嘗試各種儲存方式及後續分析活性及純度的方法也再之後的研究討論中建構出雛型，其中最重要的是對產品的品質要求及品管制度的建立，這是除了技術學習外對產業界蠻注重的一個思惟，也再計畫的進行當中對相關人員觀念上也漸漸的建立起來。

●產學研各界之技術移轉及合作效益說明

在本計畫的委外研究上公司選擇長庚醫學大學為合作對象，這方面除了長庚醫學大學本身在醫學研究上有著一定程度的實力，更借由長庚內部的研究單位和其醫學單位來合作，找出合適的活體小鼠腫瘤進行後端的研究，期待可以加快此產品的研發時程。

● 新產品創造之技術效益及市場效益說明

本計畫完成後除了所建立的新產品-活體偵測細胞凋亡之核醫顯影劑用於動物細胞凋亡之活體研究市場，而且所建立核醫放射核種鎘99m直接標幟於修飾蛋白之技術平台將可擴展至其他可用於核醫顯影之蛋白或胜開發。至於產值部分之預估需更進一步後續的市場調查，但目前所知核醫顯影市場是未來一潛力市場。

● 計畫完成後對提升我國產業水準及競爭優勢說明

本計畫是以新穎的技術開發核醫顯影劑，以往此類試劑的開發屬於較繁瑣的化學標幟流程經由本計畫的直接標幟技術的成熟化的經驗，將有助於國內縮短開發核醫顯影劑的時程及開發國內自有的核醫顯影劑。所以實創國際生技自有的研發水準將可更快速的提供此類的動物活體影像用之核醫顯影劑，且可更進一步將往人體核醫顯影劑用藥的開發方向發展。

● 專案執行重要心得

在探討純化重組人Annexin V衍生蛋白之生物活性時，曾經頭痛了一陣此修飾過後的蛋白要靠當初較早期的

純化方式，如分子篩大小分離、調整鹽濃度、不同的pH值狀態、陽離子管柱或陰離子管柱等等特性來分離純化想要的目標物衍生蛋白，在這樣繁瑣的抓取條件過程中又擔心蛋白會因為這些外在環境改變及處理下失去原本預期的活性，後來在進行計畫當中的競爭性測試標準曲線的過程中，想到利用當初建立的原核生物活性測試系統中所使用的菌體來當作介質，直接對衍生物蛋白來抓取，於是開始設計一些小量的前期實驗，來看看原核生物大腸桿菌MV10的對此Annexin V蛋白結合效果，後來觀察到結合的能力很強，可以利用這樣的方式來對有活性的衍生物蛋白進行純化，當中更重要的是這個方法可以直接就對衍生物蛋白的活性做了確認的動作，當然在整個介質大腸桿菌MV10的製程放大過程中也花了一些時間去調整菌體的狀態，使其做出來的介質菌是可以用來純化，這和當時建立原核生物活性測試系統時的歡喜是相當的，想想這個菌株真是神奇，不過這個方法還可以有更進一步的改善空間，而公司研發團隊也正在進行這一份工作。

