

## THE TECHNOLOGICAL PARTNER

# Custom made *in vivo* models



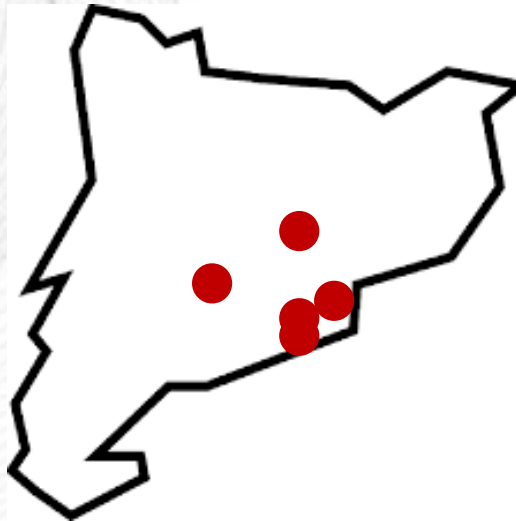


# Leitat sites



HEADQUARTERS TERRASSA

4 sites  
Terrassa, Barcelona (2) & Vilanova del Camí



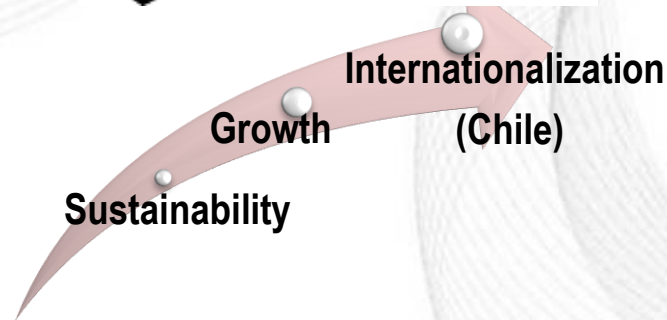
HELIX & CLUSTER BUILDING - BIO



BCN 22@ - NANOTECH



VILANOVA del CAMÍ





# What is Leitat?

Recognized by

Generalitat de Catalunya

**TECNIO**  
Be tech. Be competitive

Spanish Ministry of Science and Innovation

Leitat is brand of the non-for-profit private association Acondicionamiento Tarrasense

## An internationally recognised Institute

- ✓ +100 years of experience (1906)
- ✓ 250 collaborators
- ✓ More than 200 annual projects
- ✓ IP (patents fully owned & with companies)
- ✓ Spin-Off companies

**LYKERA**  
biomed



**MISSION:** Create value through research and technological processes

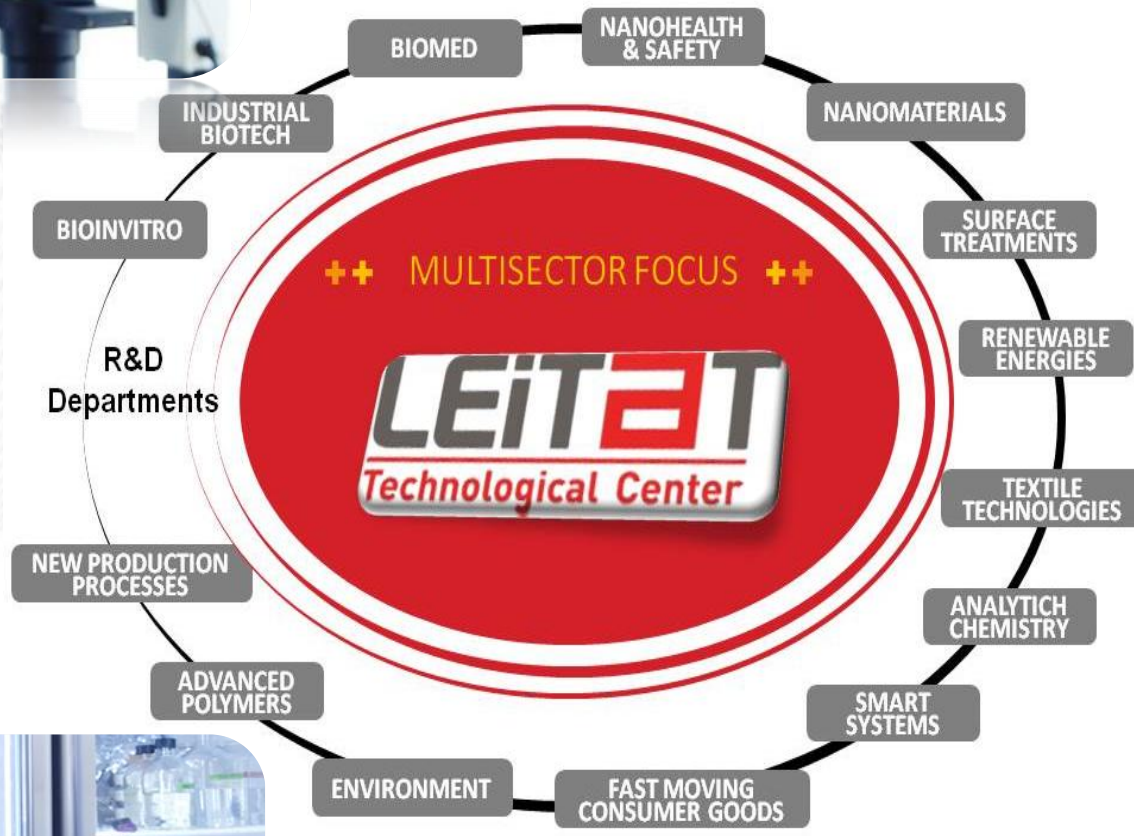
**VISION:** To be a reference technological partner for companies and institutions, creating a corporate culture that allows sustained growth and efficiency.



# Multisector focus Technological Center

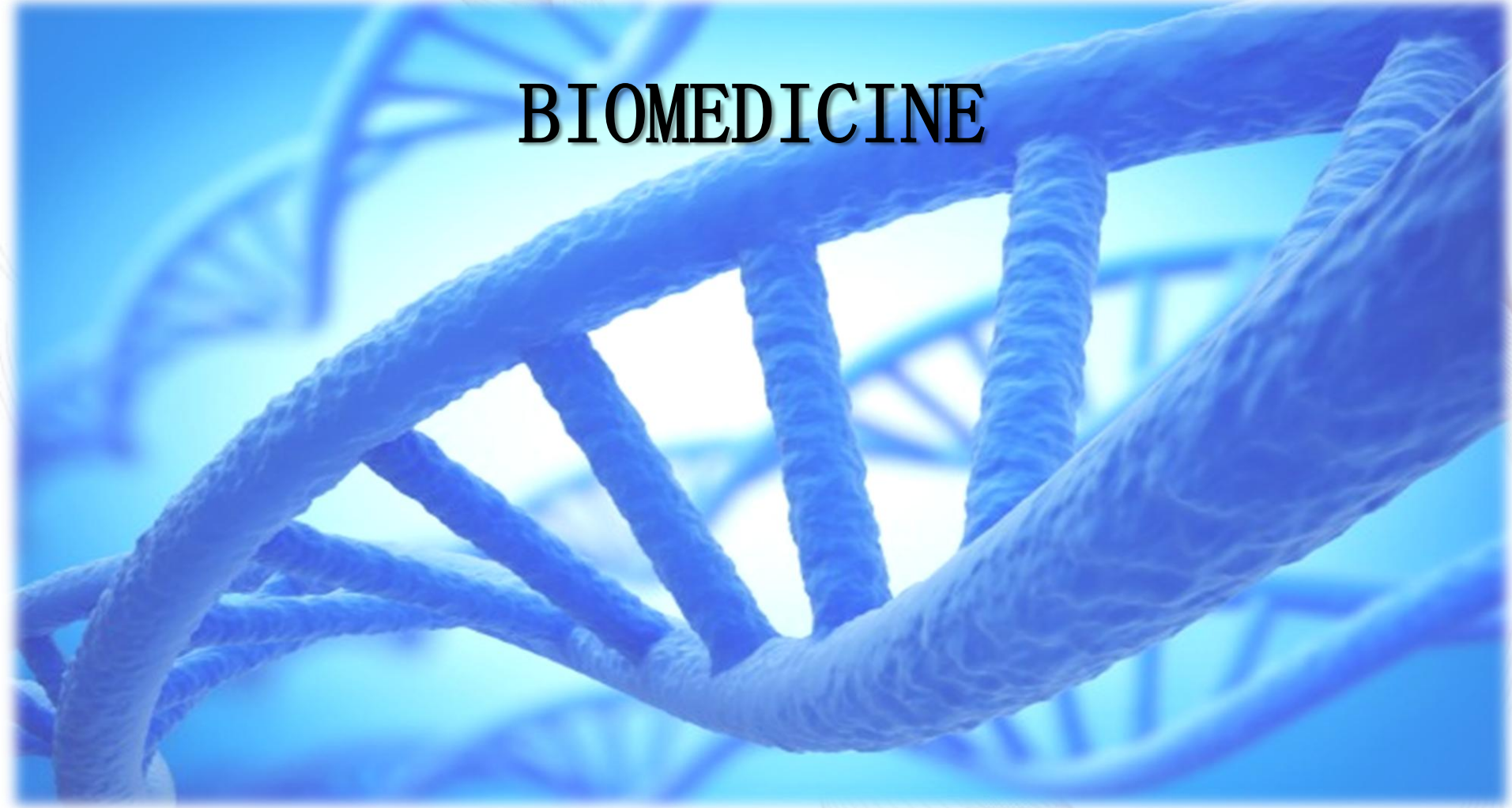
I+D+2i

- Safety & Sustainability
- Advanced materials
- Biomed
- Devices, Design & Engineering
- Environmental & Bio Technologies
- Fast Moving Consumer Goods
- Scientific & Technical Services





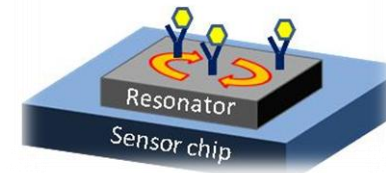
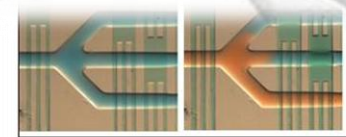
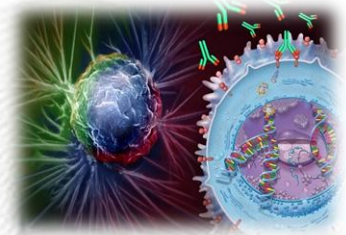
# BIOMEDICINE





# Biomed Division Expertise

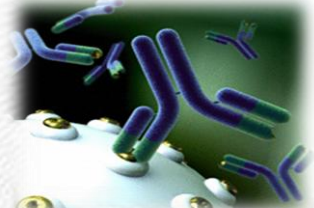
- ✓ **Cancer therapy**: targets, drug generation & characterization, targeting and drug delivery. Analysis of the **therapeutic efficacy** of new compounds. Other indications: **inflammation**, autoimmune diseases.
- ✓ **Diagnosis**, prognosis and monitorization: **biomarkers**, reagents, tools, devices (monoclonal **antibodies**, **LFD**, **biosensors...**). Industrial sectors:
  - Pharma, Biotech & Veterinary (diseases, infections, vaccines)
  - Food (contaminants, allergies, intolerances, quality)
  - Environment, etc
- ✓ **Drug reprofiling**: identification of new indications for well-known and phase-III drugs.



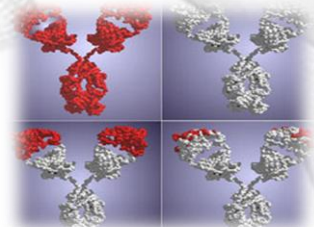


# Biomed Technological platforms

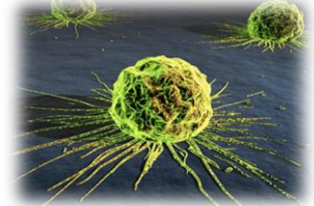
## DIAGNOSIS



## THERAPY



## MoA



## EFFICACY



- ✓ Generation of **monoclonal antibodies** (mAb) for basic research, diagnosis and therapy.

Recombinant proteins, Immunization, Serum titer, Mouse polyclonals, Fusion, Screening, Cloning, Hybridomas, Isotyping, Production & Purification, F(ab')<sub>2</sub>, Fab, scFv, Conjugation, ELISA, WB, FACS, IHC, Diagnosis, Biosensors

- ✓ **mAb engineering**: chimerization, humanization & biosimilars

Sequencing, Cloning, Chimeric mAbs, Humanized mAbs, scFv fragments, Fusion proteins Modeling, Transient expression, Stable clones, Nanobodies, Bispecifics, ADCs, Production, Biosimilars

- ✓ **Biogenomics**

Target validation by siRNA, PPRH (DNA hairpins), arrays (expression, pharmacogenomics, toxicology), cell transfection.

- ✓ **In vitro cell models**

Proliferation, Viability, Apoptosis, Nanotox, Migration, Adhesion, Angiogenesis, Tumorspheres (CSC), ADCC, CDC...

- ✓ **In vivo animal models**

Syngenic & xenogenic, Subcutaneous & orthotopic, Experimental & spontaneous metastasis PDX (avatar), Angiogenesis in Matrigel plugs, Tumor angiogenesis, Non-invasive imaging...



# Legislation on animal models Projects / procedures





# Legislation on animal experimentation



Generalitat de Catalunya  
Departament de Territori  
i Sostenibilitat

## Memòria descriptiva d'un projecte d'experimentació amb animals

### 1. Dades de l'usuari (persona física o jurídica que utilitza animals en procediments)

Identificació de l'usuari (Nom i cognoms o raó social)

Jose Luis HERNANDEZ MIGUEZ

Núm. de registre del centre usuari on es portarà a terme el/s procediment/s del projecte

B9900044

### 2. Dades del personal que participa en el projecte

Sou un centre usuari universitari i/o un centre públic de recerca (Art. 33 c del Decret 214/1997)?  Sí  No

Tipus	Nom i cognom
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Francesc Mitjans
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Laura Padilla Garcia
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Jaume Adan
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Ramón Messeguer
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Lourdes Roque Navarro
<input type="radio"/> Investigador <input checked="" type="radio"/> Experimentador	Rosa Hervás
<input type="radio"/> Investigador <input checked="" type="radio"/> Experimentador	Toni Coll
<input type="radio"/> Investigador <input checked="" type="radio"/> Experimentador	Carne Calvis
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Silvia Buenestado
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Laià Llinàs
<input checked="" type="radio"/> Investigador <input type="radio"/> Experimentador	Joan Castellsague
Afegeix	

## Memòria descriptiva d'un procediment d'experimentació amb animals

### 1. Dades d'identificació del projecte

Títol del projecte

ESTUDIS DE TOXICOCINÈTICA DE COMPOSTOS EN FASE DE DESENVOLUPAMENT EN ROSEGADORS

Número d'autorització projecte (només per sol·licituds de modificació)

Identificació de l'usuari (Nom i cognoms o raó social)

Jose Luis HERNANDEZ MIGUEZ

DNI/NIF/NIE

52464579S

Noms i cognoms del/de la responsable del projecte

Jose Luis HERNANDEZ MIGUEZ

DNI/NIF/NIE

52464579S

Noms i cognoms del/de la responsable administratiu de l'usuari

Montserrat de Luna

DNI/NIF/NIE

46222384C

### 2. Dades del procediment

Codi del procediment dins el projecte

P1

Nom del procediment

ESTUDI DE TOXICOCINÈTICA DE COMPOSTOS EN FASE DE DESENVOLUPAMENT EN RAT

Durada

30

Unitat

dies

Nombre de vegades que es preveu realitzar cada any.

50



# Legislation on animal experimentation

## 7. Disseny i metodologia

Descriviu, de forma seqüencial i detallada, la tècnica o tècniques previstes per a la realització del procediment

Descriviu, de forma seqüencial i detallada, la tècnica o tècniques previstes per a la realització del procediment

Per la realització d'aquest procediment s'utilitzaran animals del mateix sexe i edat.

A partir de les dades obtingudes pel producte en estudis in vitro, es seleccionaran com a màxim 4 dosis del producte amb progressió geomètrica. D'aquests estudis en podrem treure dades i es podrem definir marges de dosis i també descartar compostos previsiblement d'alta toxicitat. Aquestes dosis s'administraran per la via designada segons el producte a testar i segons el pes de l'animal. La via d'administració en molts casos serà la que estigui proposada per a dur a terme en la pràctica clínica (veure apartat 9 d'aquest document). La distribució dels grups serà:

- Grup 1: correspondrà a l'administració del vehicle
- Grups 2, 3 i 4: correspondrà a l'administració del producte a la concentració 1, 2 i 3.

Es realitzarà un seguiment diari del pes de l'animal juntament amb valoracions de l'alteració de la motilitat, respiració i possibles canvis en la conducta bàsica (segons paràmetres definits al protocol de benestar animal). Aquesta darrera part sobretot es durà a terme durant els 5 minuts posteriors a l'administració. Aquest seguiment serà anotat en el full de seguiment corresponent.

Aquest procediment es repetirà com a màxim durant 30 dies consecutius.

Durant el procediment pot ser necessari l'obtenció de mostres de sang, el volum s'adequarà a l'espècie i a la freqüència de mostreig. La via d'elecció principal serà la vena facial o la vena safena ja que no es necessita l'ús d'anestèsia. Es poden utilitzar altres mètodes descrits com de la vena de la cua, sinus orbital o vena jugular sempre sota anestèsia de l'animal.

Al final de l'assaig es sacrificaran els animals. El sacrifici tindrà lloc per inhalació de CO<sub>2</sub>. Com a punt final es realitzarà l'exsanguinació de l'animal mitjançant punció cardíaca i adicionalment es poden obtenir diferents òrgans (mostres) pel posterior anàlisi.



# Legislation on animal experimentation



Generalitat de Catalunya  
Departament de Territori i Sostenibilitat

Desar com a fitxer pla (imatge pdf)  
(cal disposar d'una impressora PDF)

## 11. Protocol de supervisió del patiment, el dolor o l'angoixa que puguin experimentar els animals

Fases en les que es preveu que es puguin patir patiment, dolor o angoixa	Probabilitat d'incidència	
Administració dels productes de l'estudi	baixa	X
Afegeix		

Com es reconeixeran els signes o efectes adversos (patiment, dolor o angoixa)?  
Com que es tracta en molt casos de l'ús de productes desconeguts es possible que l'animal pugui experimentar patiment en algun moment del procediment. En cap cas es contemplen estudis de toxicitat amb punts finals letals. Degut a això es farà un seguiment diari de l'estat de l'animal i es procedirà al sacrifici humanitari segons els paràmetres definits en el protocol de supervisió. En concret els animals seran **+**

Describeix detalladament el protocol de supervisió adaptat al procediment que ha de permetre reconèixer aquests efectes.  
El protocol de supervisió bàsic del benestar animal durant els dies de durada de l'estudi i es basarà en l'observació i resposta a estímuls i en el control del pes corporal (veure protocol Annex I). A més es realitzarà el control diari dels següents paràmetres: reactivitat, deshidratació, petèquies, hemorragies i control d'ingesta. **+**

Mesures correctores previstes per tal de prevenir i controlar els possibles signes o efectes adversos  
Com a mesura correctora en cas de que els animals presentin efectes adversos segons l'Annex, rebran una dosi de Buprenorfina a una concentració de 0.05mg/kg per via subcutània (garantia analgèsica de 24h). Si no s'observa millora en l'animal, es procedirà immediatament al seu sacrifici. **+**

El protocol s'aplicarà a partir del moment:	Es controlarà durant:
Inicial	Tot el que dura el procediment
Es controlarà amb una freqüència de:	Realitzaran el control les persones següents
Diària	Personal implicat en el projecte



# Legislation on animal experimentation

Títol	Nº Generalitat
Immunització de ratolins amb <b>cèl·lules</b> per l'obtenció de sèrum immune i limfòcits activats per la producció d'anticossos	DAAM-7958
Immunització de ratolins amb <b>antigens</b> per l'obtenció de sèrum immune i limfòcits activats per la producció d'anticossos	DAAM-5883
Avaluació en ratolins de la <b>màxima dosis tolerada</b> per a fàrmacs antitumorals	DAAM-5881
Avaluació de l'activitat anti-angiogènica de compostos en fase de desenvolupament sobre la formació de vasos sanguinis induïts en matrius de <b>matrigel</b> prèviament administrades a ratolins	DAAM-5882
Creixement <b>ectòpic</b> de tumors en ratolins per l'avaluació de compostos antitumorals en fase de desenvolupament	DAAM-6038
Creixement ortotòpic de tumors de <b>mama</b> en ratolins per l'avaluació de compostos antitumorals en fase de desenvolupament	DAAM-6040
Creixement ortotòpic de tumors de <b>cervell</b> en ratolins per l'avaluació de compostos antitumorals en fase de desenvolupament	DAAM-4729
Creixement ortotòpic de tumors de <b>pàncrees</b> en ratolins per l'avaluació de compostos antitumorals en fase de desenvolupament	DAAM-4730
Creixement ortotòpic de tumors de <b>pròstata</b> en ratolins per l'avaluació de compostos antitumorals en fase de desenvolupament	DAAM-4731
Creixement ortotòpic de tumors de <b>colon</b> en ratolins per l'avaluació de compostos antitumorals en fase de desenvolupament	DMAH-5550
Avaluació de paràmetres <b>farmacocinètics</b> de compostos en fase de desenvolupament en el <b>ratolí</b> .	DAAM-7361
Avaluació de paràmetres <b>farmacocinètics</b> de compostos en fase de desenvolupament en la <b>rata</b> .	DAAM-7360
Avaluació de la <b>seguretat</b> en la <b>rata</b> de noves entitats químiques o nanomaterials en fase de desenvolupament	DAAM-8854
Avaluació de la <b>seguretat</b> en el <b>ratolí</b> de noves entitats químiques o nanomaterials en fase de desenvolupament	DAAM-8853

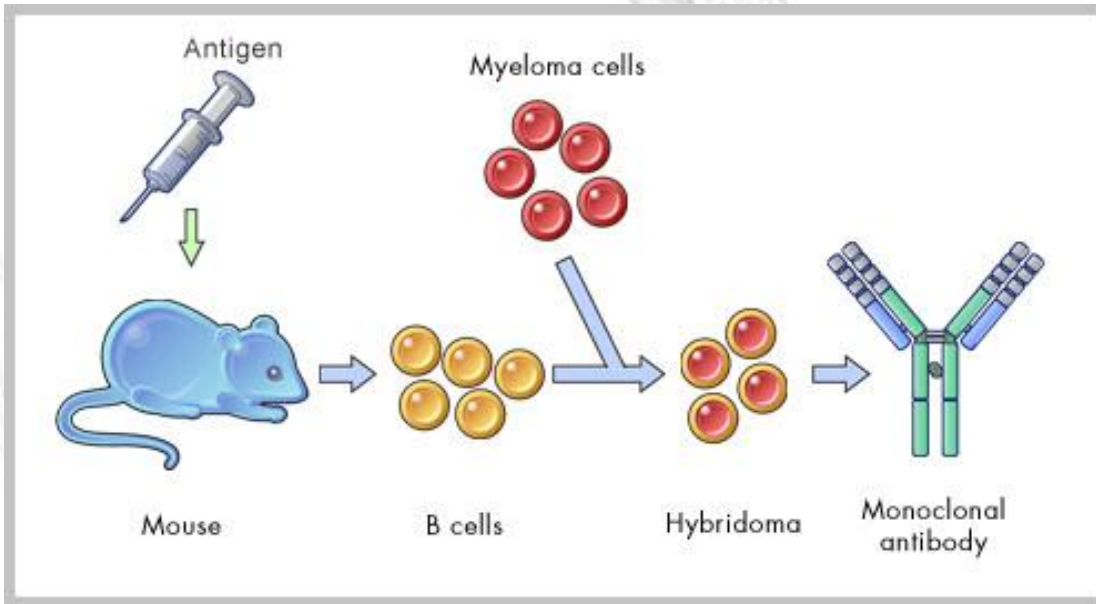


# Antibody generation platform Immunization

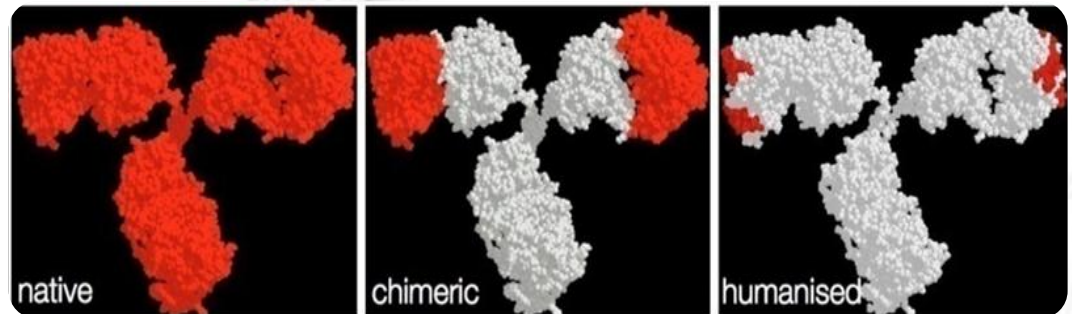


# Monoclonal Antibody Platform

## Monoclonal Antibody Generation



## Antibody Engineering





# Monoclonal antibody platform

## Generation & Characterization

- Recombinant proteins
- Overexpression & gene silencing
- Ag & cell immunization
- Serum titles
- Polyclonals
- Fusion, Screening, Cloning
- Hybridomas
- Isotyping
- Production & Purification
- F(ab')<sub>2</sub>, Fab, scFv
- Conjugation & labeling
- ELISA, WB, FACS, IHC
- Diagnosis
- Biosensors

## Antibody Engineering

- Sequencing
  - Cloning
- Chimeric Mabs
- Humanized Mabs
- scFv fragments
  - Nanobodies
    - ADCs
- Fusion proteins
  - Bispecifics
- Transient expression
  - Stable clones
- Production & Purification
  - Therapy
  - Biosimilars



# Drug screening models

## Efficacy, pre-tox, Biodistribution

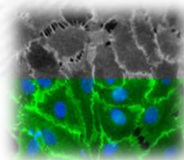
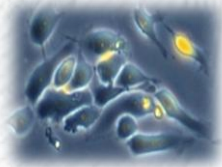




# Cellular models

(some examples)

- Proliferation
- Viability
- Apoptosis
- Pre-tox
- Migration
- Wound healing
- Adhesion
- Angiogenesis
- Tumorspheres  
(Cancer Stem Cells: CSC)



*Efficacy assessment, Mechanism of action,  
Drug reprofiling, Preclinical studies*

Indication	Cell lines	
Colon	HCT-116	KM12-L4a
	HT-29	LoVo
	Colo 205	LS174T
	CT-26	
Breast	MDA-MB-231	BT-474
	MDA-MB-468	SKBR-3
	MCF-7	T47-D
Pancreas	BxPC3	Mia Paca 2
	RPWI	NP-18
	Panc 1	
Prostate	PC3	DU 145
	LnCap	
Lung	A549	NCI-H358
	LL2	HI-1650
	NCI-H1975	
Melanoma	Sk Mel 28	M21
	B16-F1	MDA-MB-435
Ovarian	Ovar 3	SKOV-3
CNS	DAOY	U-373MG
	Sh Sy5y	U-87MG
Haematologic	Ramos	TF-1
	K562	CCRF-CEM
	Jurkat	U937
	THP-1	
Renal	786-0	
Fibrosarcoma	HT-1080	
Endometrium	An3Ca	
Epithelium	A-431	
Endothelium	HUVEC	



## *In vivo* models: classification

**Syngenic:** genetically identical or immunologically compatible or sufficiently identical and immunologically compatible

**Allogenic:** genetically different because of being derived from separate individuals of the same species

**Xenograft:** from other species

### Injection site

- **Subcutaneous:** under de skin
- **Orthotopic:** relating to the grafting of tissue in a natural position
- **Experimental metastasis:** intrasplenic, intracardiac, i.v.



# Animal models

(some examples)

- Syngenic & xenogenic
- Subcutaneous & orthotopic
- Metastasis (exper. & spont.)
- Patient Derived Xenografts (PDX)
- Angiogenesis in Matrigel plugs
- Tumor angiogenesis
- Non-invasive imaging



Efficacy assessment, Drug reprofiling, Pre-Tox (MTD), Pre-PK, Biodistribution

Indication	Line	Subcutaneous Orthotopic	
		Models	Models
Colon	<i>HCT 116</i>	X	X
	<i>HT 29</i>	X	X
	<i>Colo 205</i>	X	X
Breast	<i>MDA-MB-231</i>	X	X
	<i>MDA-MB-468</i>	X	X
	<i>MCF-7</i>	X	X
Pancreas	<i>BxPC3</i>	X	X
	<i>Panc-1</i>	X	X
	<i>Mia Paca-2</i>	X	X
Prostate	<i>PC3</i>	X	X
	<i>LnCap</i>	X	X
	<i>DU145</i>	X	X
Lung	<i>A549</i>	X	X
	<i>LewisLC</i>	X	X
Melanoma	<i>SkMel28</i>	X	X
Ovary	<i>Ovcar-3</i>	X	X
CNS	<i>DAOY</i>	X	X
Hematologic	<i>Ramos</i>	X	
	<i>K 562</i>	X	
	<i>Jurkat</i>	X	
Renal	<i>786-0</i>	X	X
Fibrosarcoma	<i>HT 1080</i>	X	



# Tumor growth models

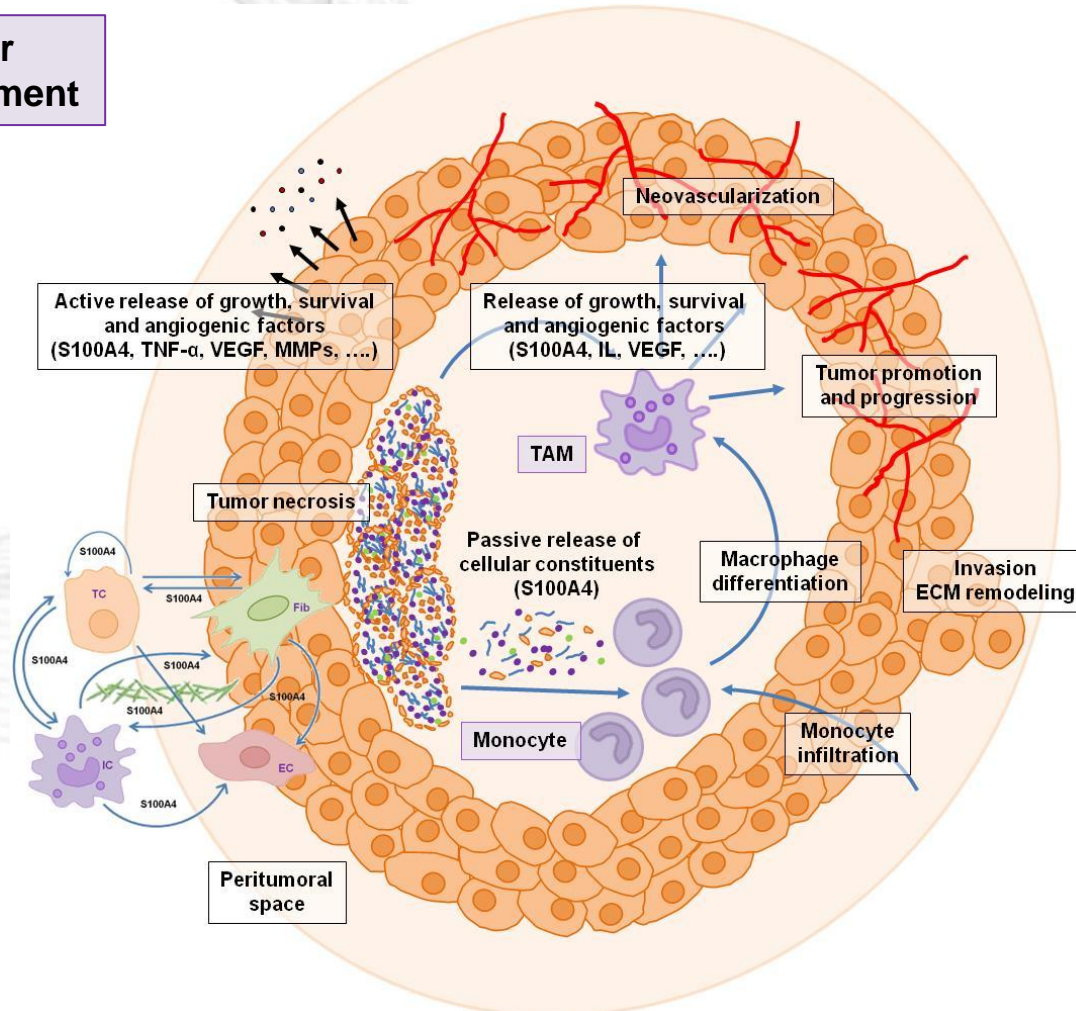
## Subcutaneous

S100 proteins: *in vivo* approach



# S100 In vivo: Possible scenario

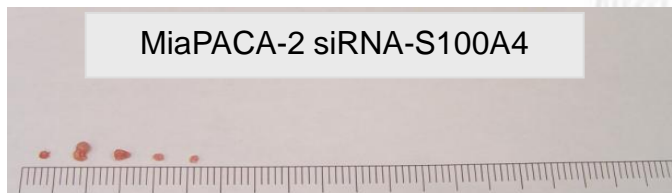
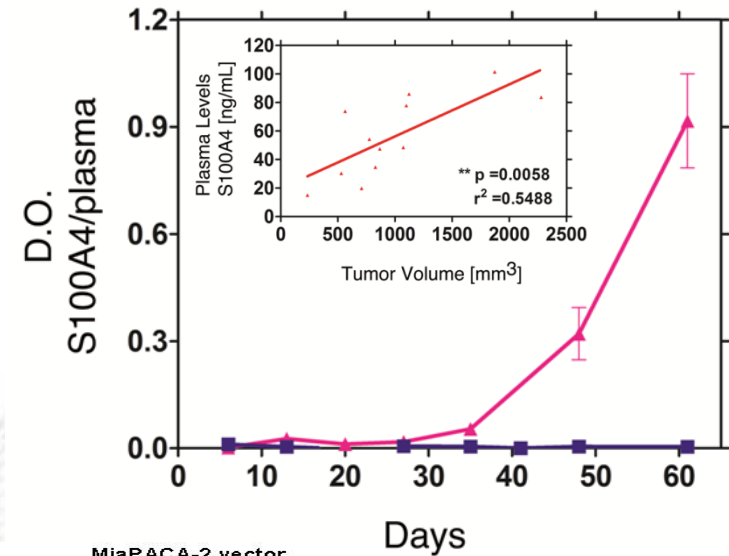
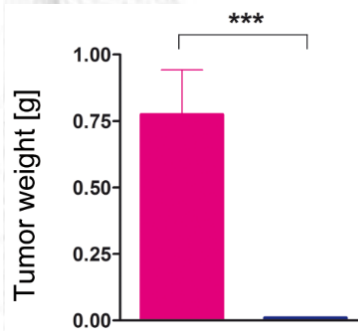
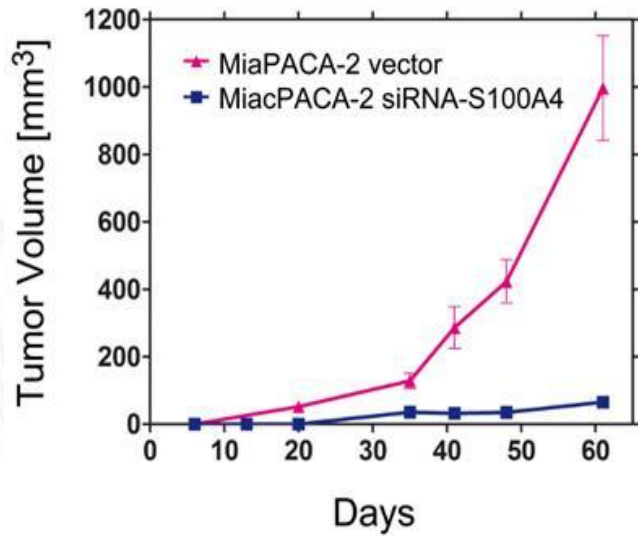
**Tumor  
Compartment**





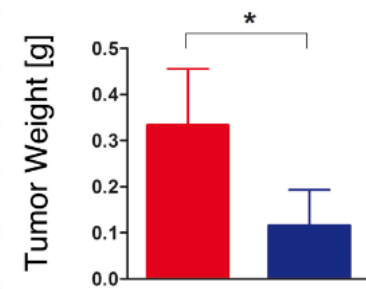
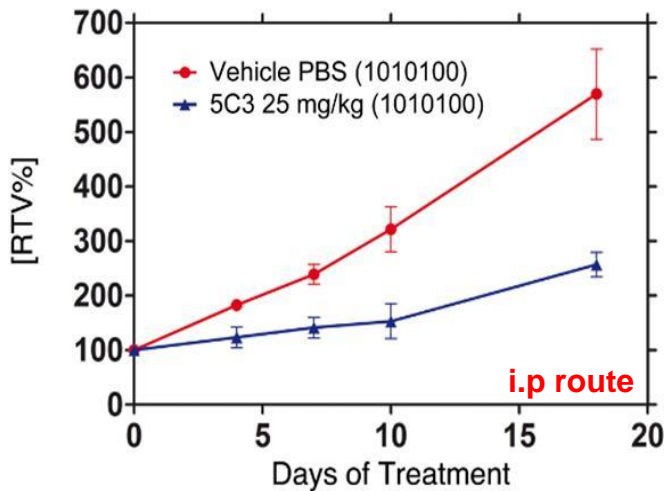
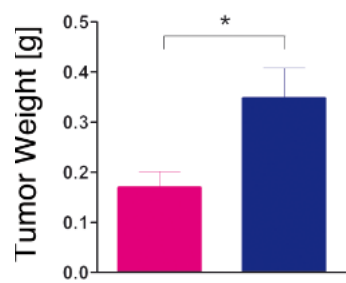
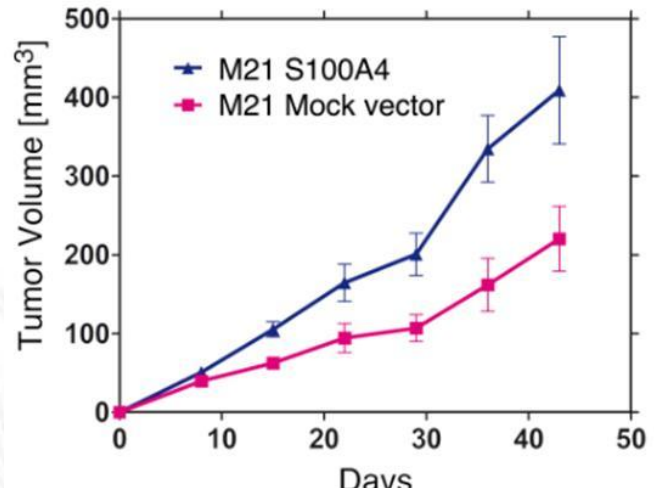
# S100A4 *in vivo* results: shRNA-S100A4

## Human pancreatic adenocarcinoma

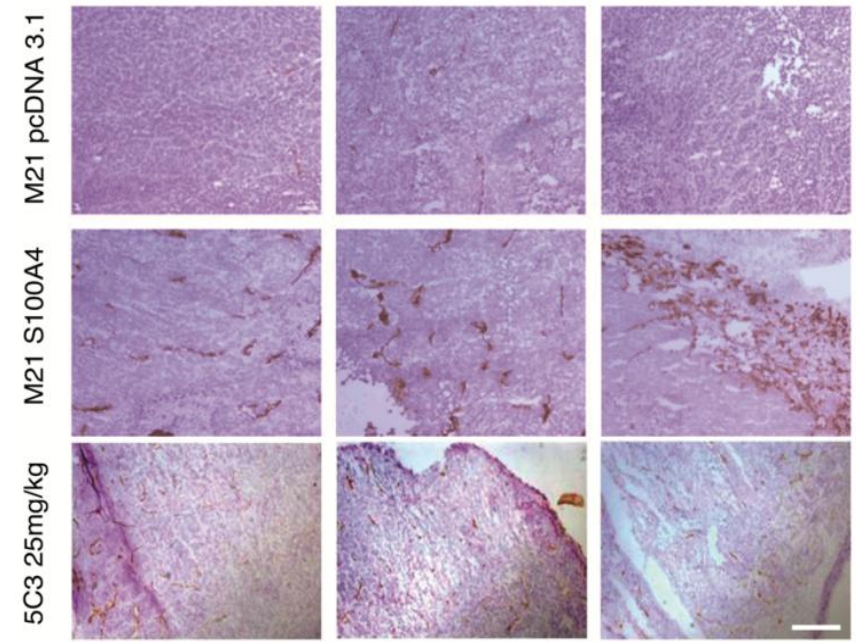




# S100A4 *in vivo* results: M21-S100A4 Overexp



Human melanoma

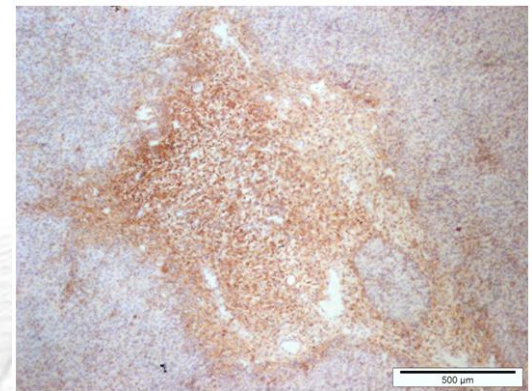
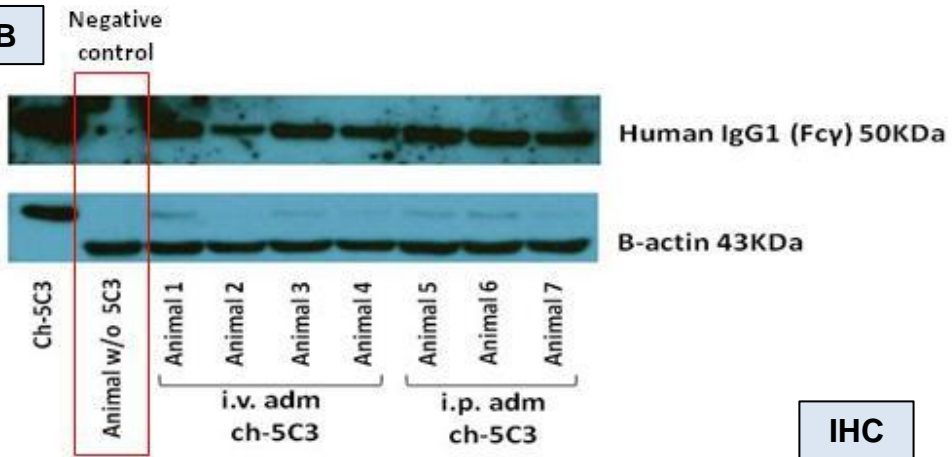




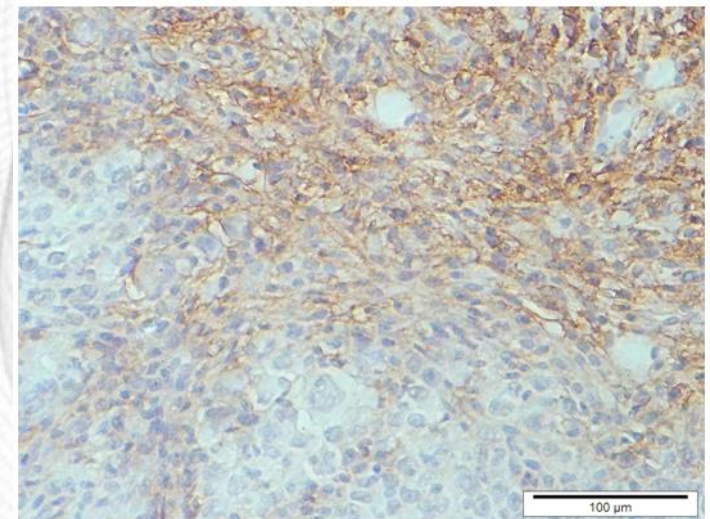
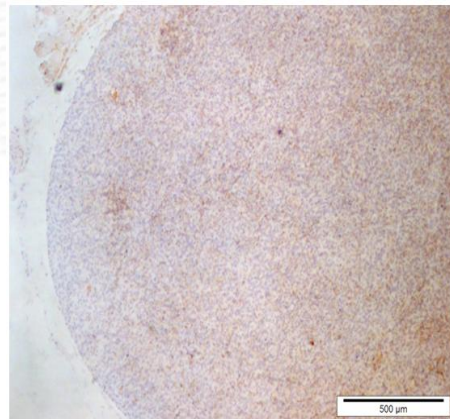
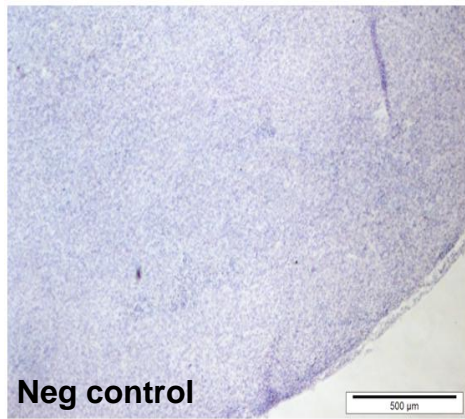
# S100A4 *in vivo* results: 5C3 Distribution

5C3 reaches the tumor (either by i.v. or i.p. routes): MiaPACA-2 s.c. tumors

WB



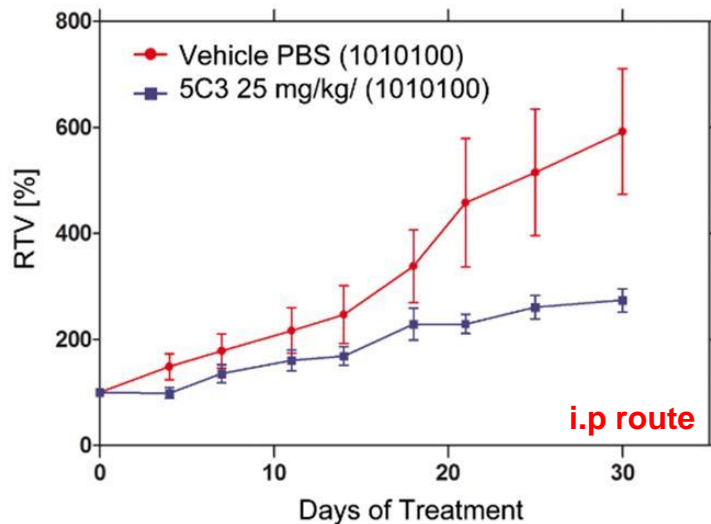
IHC



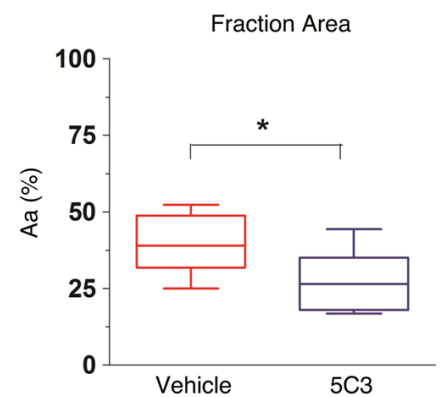
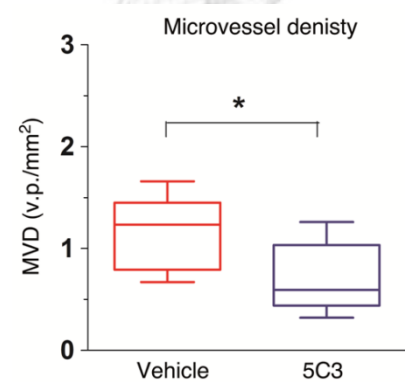
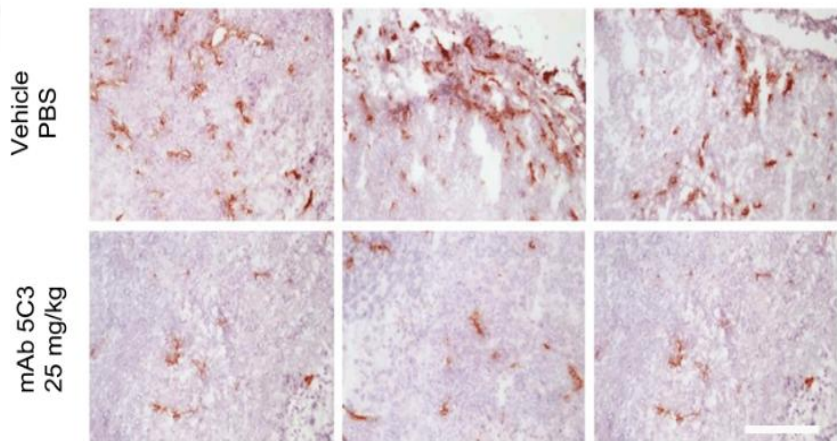
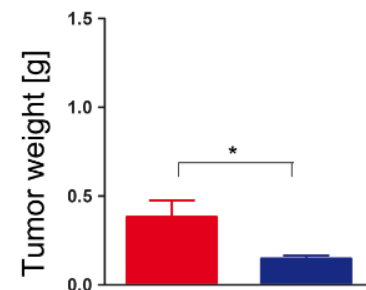




# S100A4 *in vivo* results: MiaPACA-2 s.c. Tumor

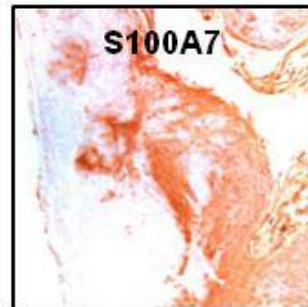
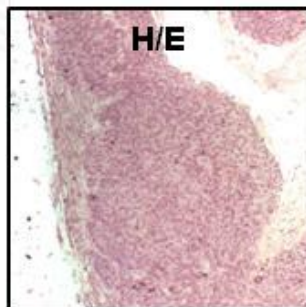
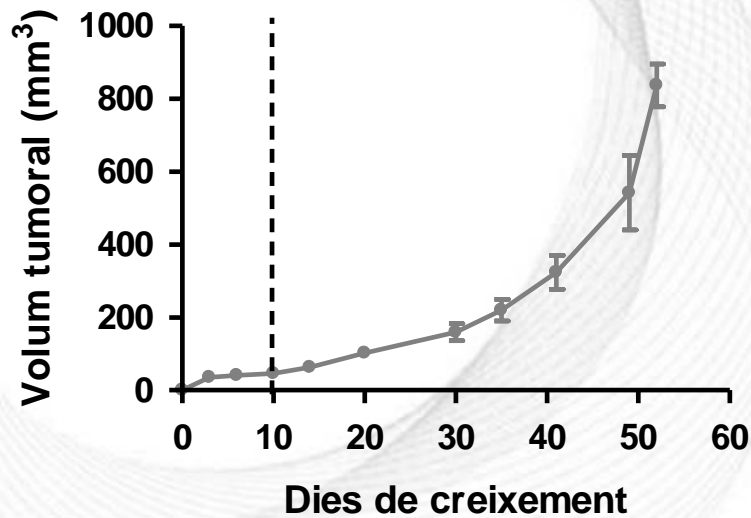


Human pancreatic adenocarcinoma

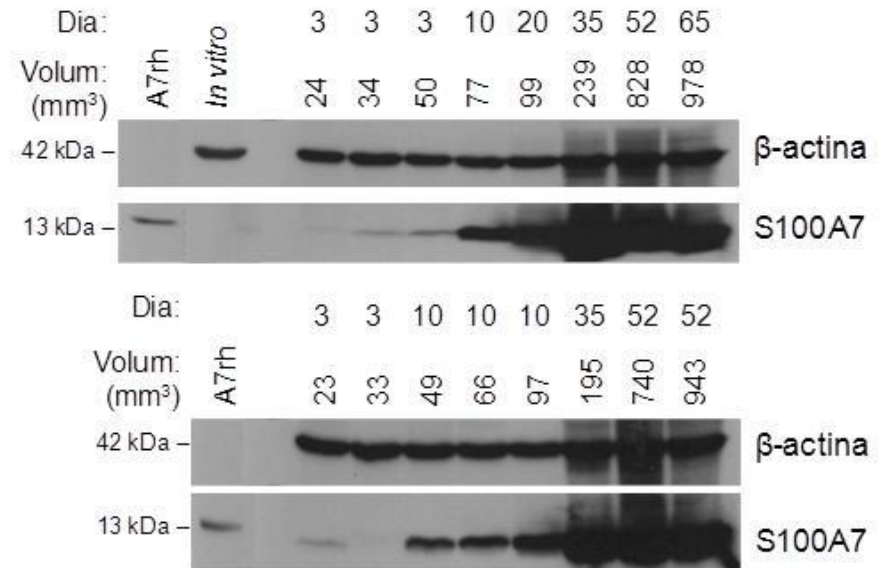




# S100A7 *in vivo* results: A431 s.c. Tumor

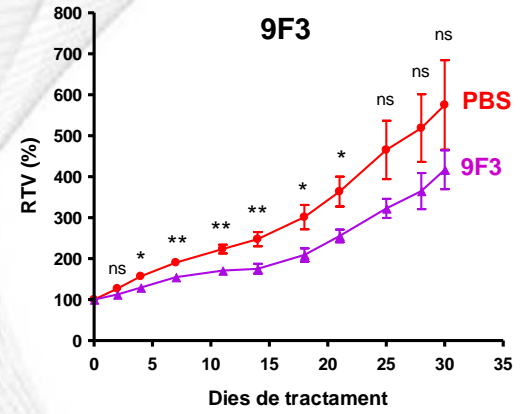
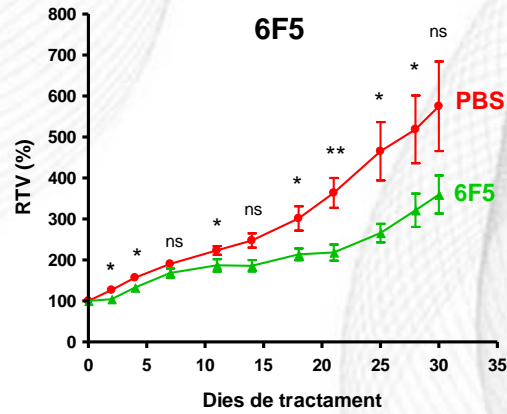
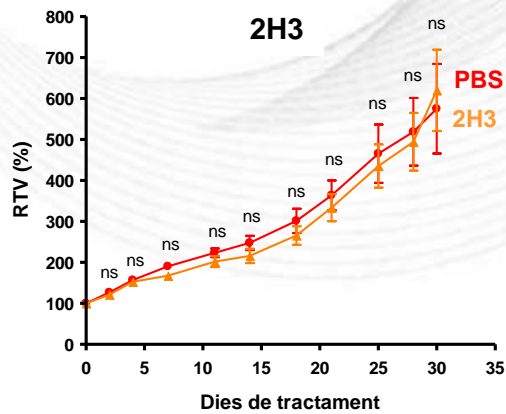
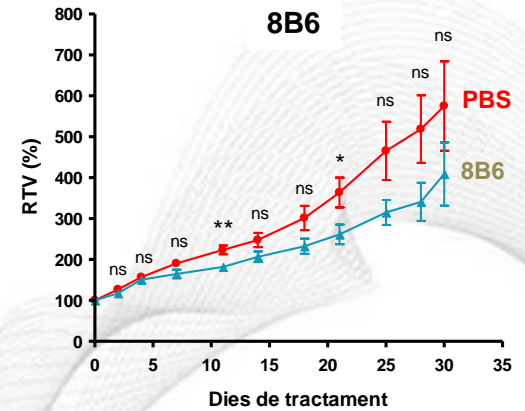
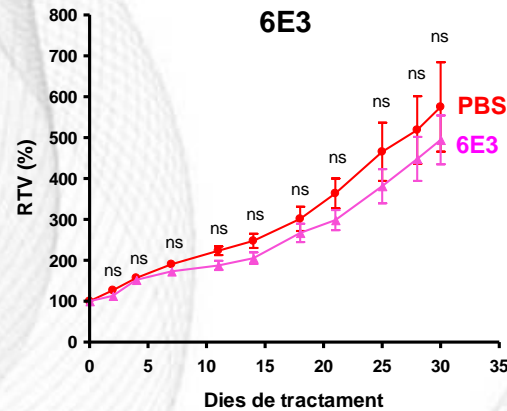
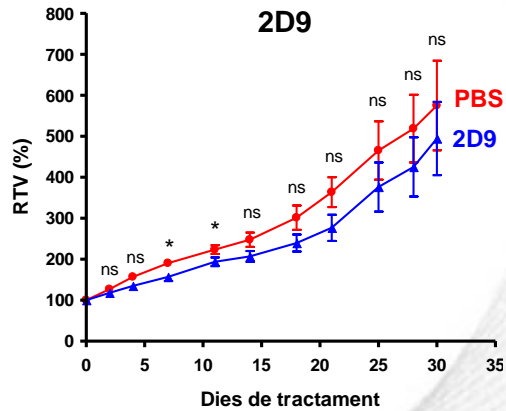


## Human epidermoid carcinoma





# S100A7 *in vivo* results: mAb selection





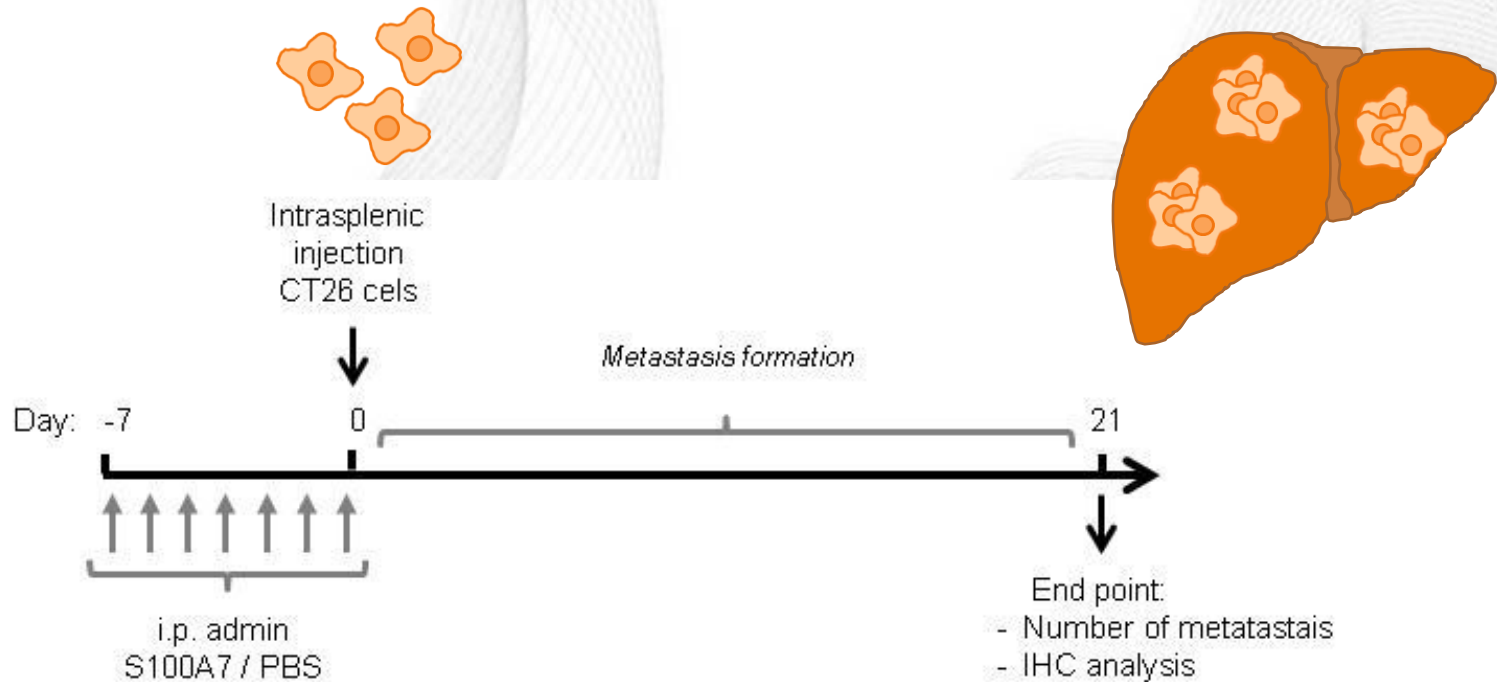
# Metastasis models

## Intrasplenic



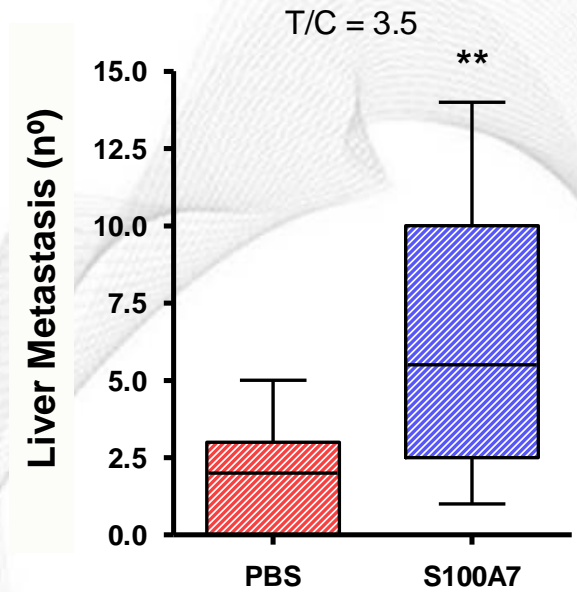
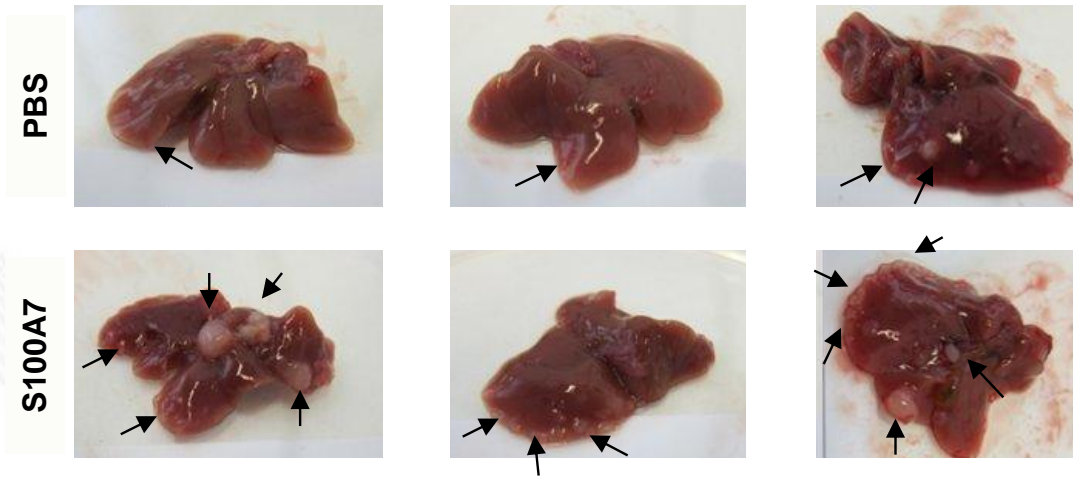
# S100A7 *in vivo* results: intrasplenic model

## Experimental metastasis





# S100A7 *in vivo* results: S100A7 effect





# S100A7 *in vivo* results: S100A7 effect

Picrosirius red staining

Control

Bright field

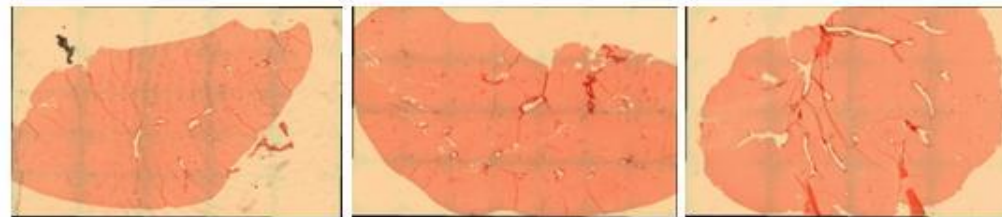


Polarized light

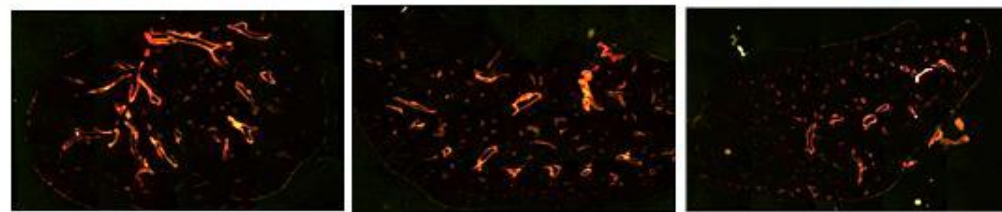


S100A7

Bright field



Polarized light





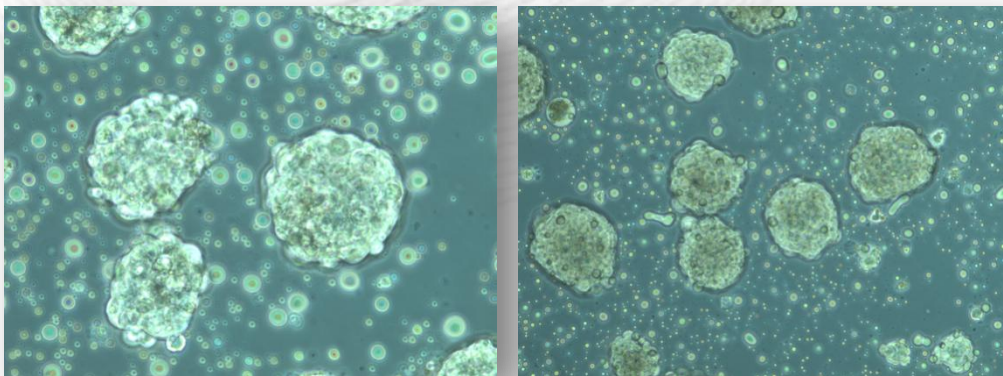
# Cancer stem cells: Breast tumors

## In vitro Studies:

- “Tumorspheres”:
  - Colon cell lines
  - Breast cell lines
  - Pancreas cell lines

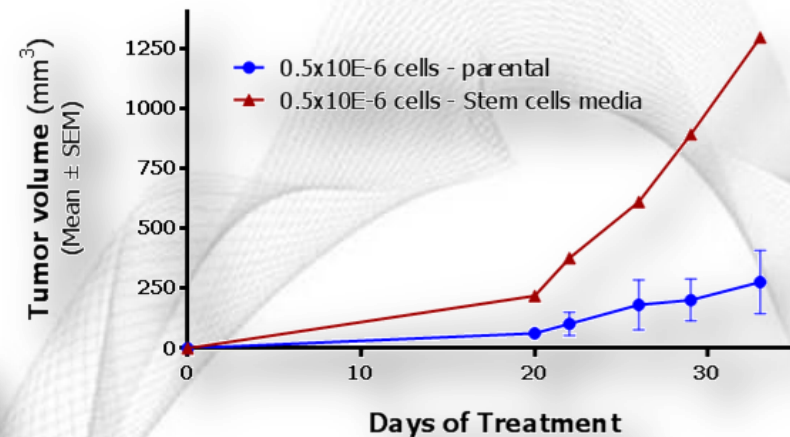
## In vivo model:

- Orthotopic injection of “tumorspheres”
  - Increased tumor growth rate in animals



Mammospheres generated from culture of MDA-MB-231 breast tumor cell line in specific medium for cancer stem cells

**TUMOR VOLUME**  
Orthotopic MDA-MB-231







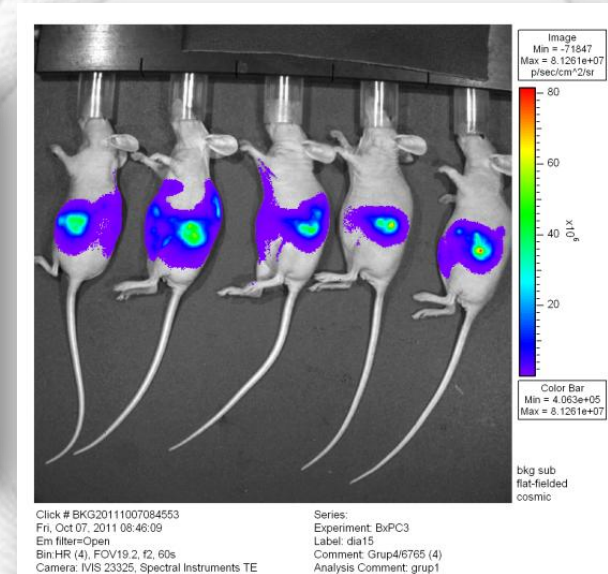
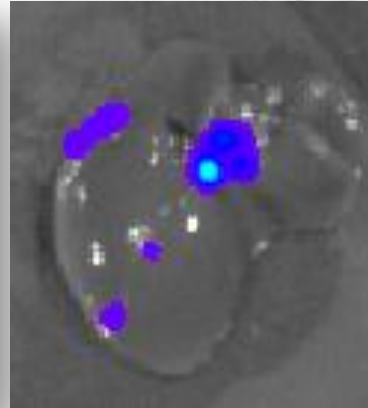
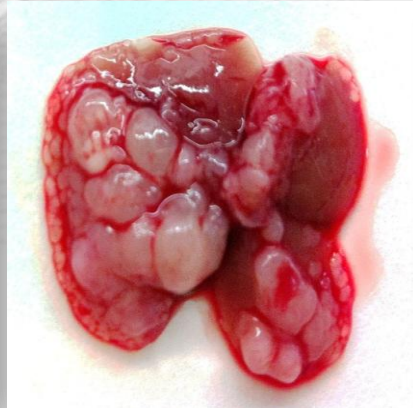
# Metastasis models

## Orthotopic



# Orthotopic models

		Metastasis Models					
	Indication	Line	inocule	placement	Target organ	Assay duration (days)	Measurement
HUMAN	Pancreas	MiaPaca	tissue	pancreas	liver, lung, peritoneal	60	surface spot
		BxPC3 luc	tissue	pancreas	liver	60	surface spot/photon count
	Colon	KM12L4-Luc	cells	intraspleen	liver	20	surface spot/photon count
MOUSE	Lung	LL2	cells	iv	lungs	25	surface spot
			cells	sc	lungs	25	surface spot
	Colon	CT26	cells	intraspleen	liver	20	surface spot
	Breast	4T1	cells	mammary fad pad	lungs	20	surface spot
		MHC-02-10	cells	mammary fad pad	lungs	40	surface spot





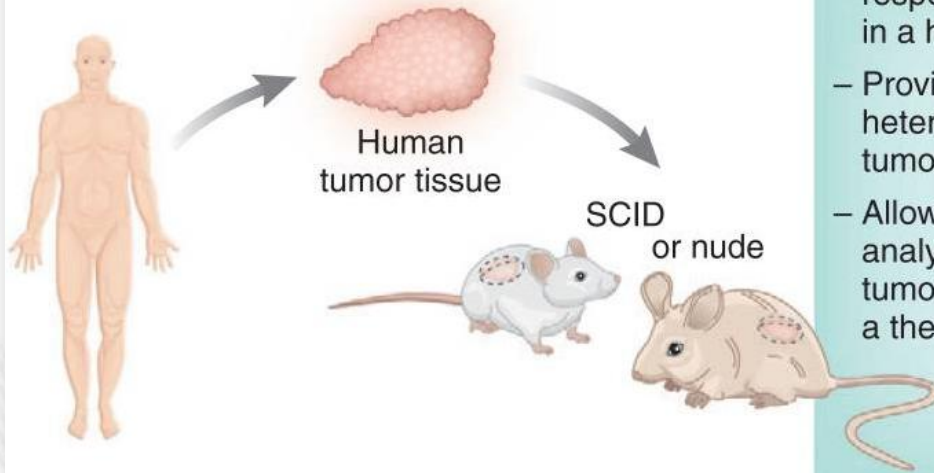
# Predictive models (Personalized) Patient Derived Xenograft (PDX)



# Patient Derived Xenograft (PDX)

More predictive models (Patient Derived Xenograft (PDX), Tumorgrafts or Avatar models)

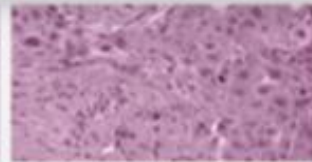
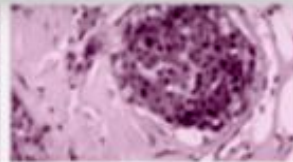
## Orthotopic xenograft of human tumors



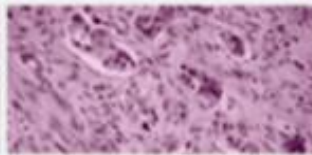
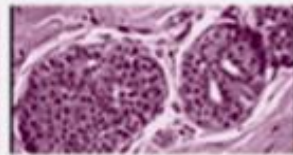
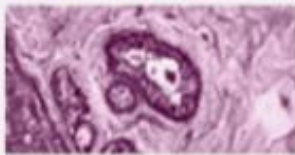
- Can predict the drug response of a tumor in a human patient
- Provides realistic heterogeneity of tumor cells
- Allows for rapid analysis of human tumor response to a therapeutic regime

- Collaborations with Hospitals ongoing
- Tumor fragments implanted orthotopically
- Colon, breast, pancreas
- CSC identification & expansion
- Personalized therapy
- Useful material for basic translational & clinical research

Human In Mouse Model



Human Samples



Normal Ducts

Carcinoma In situ

Invasive breast adenocarcinoma

Adapted from: Richmond & Su, Dis Model Mech. 2008, 2

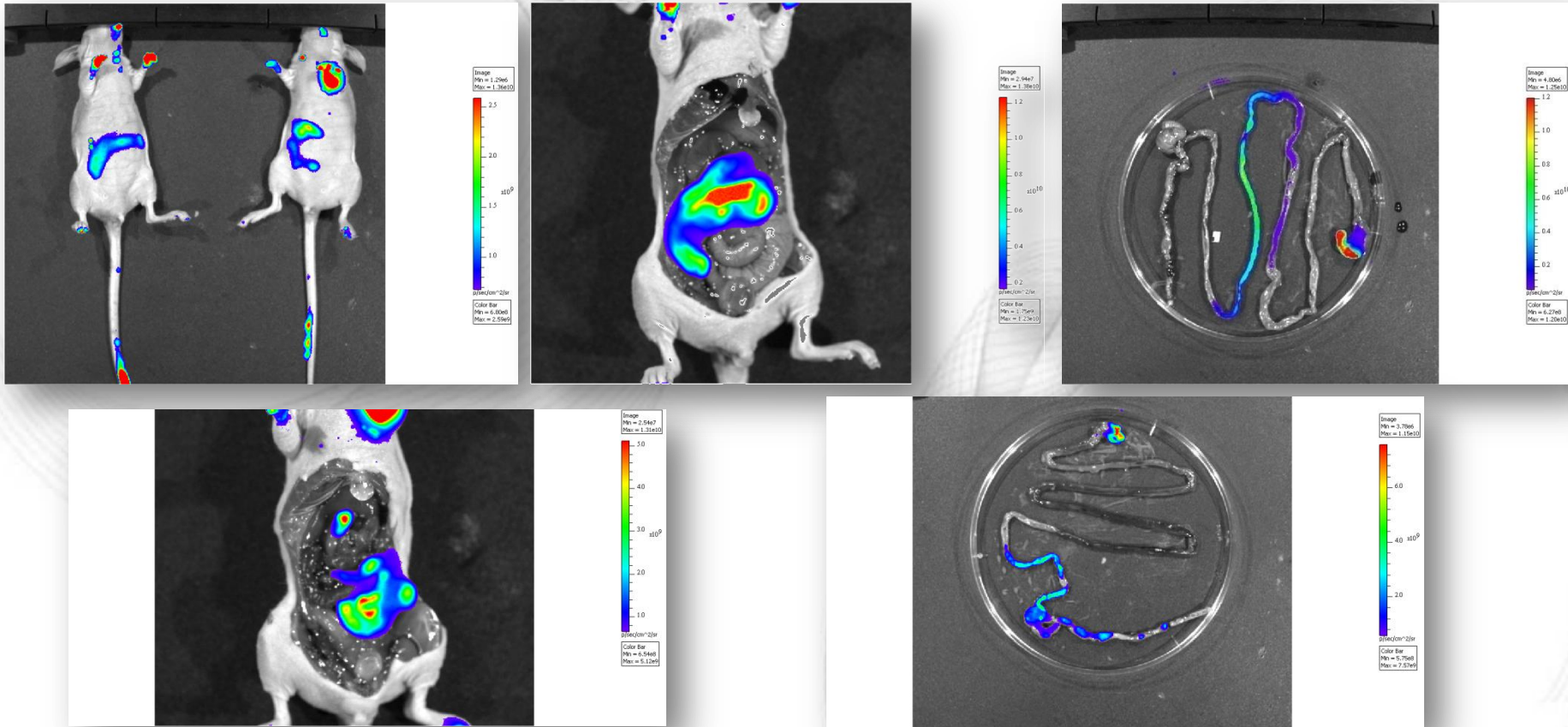


# Biodistribution models



# Biodistribution models

## Imaging biodistribution of fluorescent nanocapsules



Collaboration with the University of Santiago de Compostela, Spain





# How do we work?



# How do we work with people? ... as CRO

- ✓ **Contract research (fee-for-service base)**
- ✓ **Master Service Agreement**
- ✓ **Tailored Dedicated Services**
  - Scientific expertise and know how focused on **client's** R&D needs
  - LEITAT's personal strictly dedicated to **client**
  - Flexibility of resources and services
  - Access to all the LEITAT's facilities and researchers
  - Multidisciplinary environment





# Main Collaborators - I



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE MADRID



CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



LABORATORIOS HIPRA, S.A.



**LEITAT**

Acondicionamiento Tarrasense

**Tel. (+34) 93 788 23 00**

Fax (+34) 93 789 19 06

[www.leitat.org](http://www.leitat.org)

[info@leitat.org](mailto:info@leitat.org)

**Terrassa**

C. de la Innovació, 2

08225 Terrassa (Barcelona)

**Barcelona**

Parc Científic de Barcelona

C. Baldri Reixach, 15-21

08028 Barcelona

**Vilanova del Camí**

Centre d'Innovació Anoia

Carrer dels Impressors, 12

08788 Vilanova del Camí

Terrassa



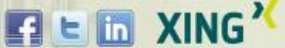
innptiso

Ciudad de la Ciencia  
y la Innovación

Ministerio de Ciencia e Innovación



SOCIAL NET:



# THANK YOU FOR YOUR ATTENTION

**LEITAT** | Technological  
Center | **TECNIO**  
managing your technologies | member of



*Biomed Division – [biomed@leitat.org](mailto:biomed@leitat.org)*  
(+34) 93 402 04 17