



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Clustering: a rational design principle for potentiated antibody therapeutics

Oostindie, S.C.

Citation

Oostindie, S. C. (2022, May 18). *Clustering: a rational design principle for potentiated antibody therapeutics*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/3304220>

Version: Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/3304220>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

DANKWOORD

Aan ieder begin komt een eind, zo ook aan dit proefschrift waar ik ontzettend trots op ben. Trots niet alleen op de inhoud, maar ook op degenen die gedurende de afgelopen jaren onmisbare stenen hebben bijgedragen aan dit proefschrift. Ik kan onmogelijk iedereen bij naam noemen die een rol heeft gespeeld in de totstandkoming van dit proefschrift, maar weet dat ik een ieder die zich aangesproken voelt enorm dankbaar ben.

Ik wil graag een aantal mensen specifiek bedanken. Te beginnen mijn promotor Paul Parren, bedankt dat je mij de kans hebt gegeven om mijn promotieonderzoek te doen binnen Genmab. Ik waardeer het ontzettend dat je ook na je vertrek bij Genmab jezelf hebt ingezet om mijn promotietraject te blijven begeleiden. Jouw passie voor de wetenschap, enorme schat aan kennis en je altijd scherpe blik hebben me geïnspireerd en gemotiveerd en zijn onmisbaar geweest in de totstandkoming van dit proefschrift.

Dan natuurlijk mijn copromotor Esther Breij, zonder jouw onvermoeibare steun had ik hier niet gestaan. Ondanks je volle agenda, kon ik altijd bij je terecht voor advies, nieuwe ideeën of gewoon een kop koffie en een goed gesprek.

Het begon allemaal bij het Antibody Research and Technologies team, ofwel ART. Frank (FBE) en Rob (RJO), bedankt voor het delen van jullie enthousiasme over HexaBody moleculen, het complement systeem en het oneindig aantal mogelijke variaties van IgG Fc puntmutaties. Marleen, bedankt voor het me wegwijs maken op lab en bovenal de gezelligheid tijdens koffie/lunch pauzes en buiten werktijd. Dan Janine, jouw deur staat altijd open en ik wil je bedanken voor de warme en inspirerende gesprekken. Ook bedankt aan andere (oud) ART teamgenoten: Bart-Jan, Gijs, Aran, Els, Xiaoguang, Kusai, Desiree, Jennifer, Klara, Tessa en Michel.

Ik vervolgde mijn promotietraject in het DuoHexaBody-CD37 team binnen Translational Research (TR). Marije, we begonnen als kamergenoten en al gauw werden we ook project teamgenoten. Bedankt voor alle gezelligheid en (PhD-gerelateerde) steun de afgelopen jaren, het is een feestje om met jou te werken! Juliette, de boemerang van Genmab; ik leerde je dubbel kennen als student en projectgenoot, vervolgens ook tijdelijk als collega, maar bovenal als super goede vriendin. Ik ben trots dat ik jou en Marije naast me mag hebben staan als paranimfen! Ook bedankt aan andere (oud) CD37- en TR

teamgenoten: Kristin, Ingrid (INI), Louise, Grietje, Laura (LVR), Berris, Laurens, Saida, Naomi, Kim, Wendy (WJA) en Barbara.

Dan mijn oud-kamergenoten Joyce, Ilse, Grietje, Maayke, Petra (PRB), Soeniel en Marije; bedankt voor de gezelligheid, eindeloze snoepvoorraden en fijne kerstsferen op de kamer. Studenten die ik heb mogen begeleiden; Lisa, Julie, Juliette, Janita en Sander: bedankt voor al het werk dat jullie me uit handen hebben genomen. Genmab oud-promovendi; Jeroen (JLA), Bart (BGO), Patrick (PEN) en Marije: bedankt voor het geven van het goede voorbeeld.

I also would like to thank Genmab colleagues at other departments, including LD&T (Rik (RRA), Marcel (MAR) and Dennis (DEV)), NAPR (Sandra (SVE), Jeroen (JBR), Ilse, Marcel (MBR), Patrick (PEN) and Bart (BGO)) and IPR/Medical Affairs (Monica, Bilge and Payal), for their one-team spirit and efforts to support this thesis. Daarnaast natuurlijk ook Joost Bakker en Laurant Blommers; bedankt voor de prachtige vormgeving van dit proefschrift.

In addition, I would like to thank colleagues at the University of Virginia (Ron and Margaret), Amsterdam Medical Centre (Hilma, Tuna and Martine), Radboud University Medical Centre (Annemiek and Simar) and Genentech (Greg), whom I have had the privilege to collaborate with during the past few years.

Natuurlijk valt geen promotietraject te voltooien zonder ontspanning. Liesbeth, zonder onze sauna uitjes ieder kwartaal had ik het niet volgehouden. Vriend(inn)en in en rondom Houten; bedankt voor de gezelligheid en de slapeloze nachten in de Ubica en omstreken.

Pap, mam, jullie onvermoeibare vertrouwen in mij zorgt ervoor dat ik iedere dag het beste uit mezelf kan halen, bedankt! Met vier kids is het ook altijd een gezellige boel aan tafel. Anouk, Joost en Manon, jullie zijn de leukste thuis!

Tot slot, lieve Jeroen: tussen de regels door ben jij degene die me heeft geholpen er een samenhangend verhaal van te maken. Dankzij jouw rotsvaste vertrouwen, oneindige geduld, luisterende oor, overzichtelijke Excelletjes en bovenal onvoorwaardelijke liefde is het me gelukt.

PUBLICATIONS

1. van der Horst HJ, Oostindie SC, Cillessen S, et al. Potent Preclinical Efficacy of DuoHexaBody-CD37 in B-Cell Malignancies. *Hemasphere* 2021; **5**(1): e504.
2. Oostindie SC, van der Horst HJ, Kil LP, et al. DuoHexaBody-CD37^{*}, a novel biparatopic CD37 antibody with enhanced Fc-mediated hexamerization as a potential therapy for B-cell malignancies. *Blood Cancer J* 2020; **10**(3): 30.
3. Lubbers R, Oostindie SC, Dijkstra DJ, et al. Carbamylation reduces the capacity of IgG for hexamerization and complement activation. *Clin Exp Immunol* 2020; **200**(1): 1-11.
4. Engelberts PJ, Hiemstra IH, de Jong B, Schuurhuis DH, Meesters J, Beltran Hernandez I, Oostindie SC, et al. DuoBody-CD3xCD20 induces potent T-cell-mediated killing of malignant B cells in preclinical models and provides opportunities for subcutaneous dosing. *EBioMedicine* 2020; **52**: 102625.
5. Oostindie SC, van der Horst HJ, Lindorfer MA, et al. CD20 and CD37 antibodies synergize to activate complement by Fc-mediated clustering. *Haematologica* 2019; **104**(9): 1841-52.
6. Cook EM, Lindorfer MA, van der Horst H, Oostindie SC, et al. Antibodies That Efficiently Form Hexamers upon Antigen Binding Can Induce Complement-Dependent Cytotoxicity under Complement-Limiting Conditions. *J Immunol* 2016; **197**(5): 1762-75.
7. de Jong RN, Beurskens FJ, Verploegen S, Strumane K, van Kampen MD, Voorhorst M, Horstman W, Engelberts PJ, Oostindie SC, et al. A Novel Platform for the Potentiation of Therapeutic Antibodies Based on Antigen-Dependent Formation of IgG Hexamers at the Cell Surface. *PLoS Biol* 2016; **14**(1): e1002344.

ABBREVIATIONS

AAALAC	association for assessment and accreditation of laboratory animal care	51Cr	chromium-51
7-AAD	7-aminoactinomycin	CRIB	charge repulsion induced bispecificity
Ab	antibody	CRP	complement regulatory protein
ABC	activated B cell	CTRL	control
(s)ABC	(specific) antibody bound per cell	DC	dendritic cells
ABC-DLBCL	activated B-cell diffuse large B-cell lymphoma	DLBCL	diffuse large B-cell lymphoma
ABTS	2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)	DMSO	dimethyl sulfoxide
ADC	antibody drug conjugate	DR5	death receptor 5
ADCC	antibody-dependent cellular cytotoxicity	DSMZ	Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen
ADCP	antibody-dependent cellular phagocytosis	EBV	Epstein-Barr virus
AF	Alexa Fluor®	EC	extra cellular
AGK	G237A, E430G, S440K	EC50	effective concentration 50%
AID	activation-induced deaminase	ECD	extra cellular domain
AKT	protein kinase B	EDTA	Ethylene Diamine Tetra-Acetic Acid
ALL	acute lymphoblastic leukemia	EGFR	epidermal growth factor receptor
AML	acute myeloid leukemia	ELISA	enzyme linked immuno sorbent assay
ANOVA	analysis of variance	ET	energy transfer
APC	allophycocyanin	E:T	effector to target ratio
ATCC	American Type Culture Collection	Fab	fragment antigen binding
AUC	area under the curve	FACS	fluorescence activated cell sorting
BaCa	Bispecific-Anchored Cytotoxicity Activator	Fc	Fragment crystallizable
BCR	B-cell receptor	FcR	Fc receptor
BL	Burkitt's lymphoma	FcRn	neonatal Fc receptor
BLA	Biologics license application	FCS	fetal calf serum
BMMC	bone marrow mononuclear cells	FcγR	Fc gamma receptor
bNAb	broadly neutralizing antibody	FDA	food and drug administration
B-NHL	B-cell non-Hodgkin's lymphoma	FELASA	European laboratory animal science associations
BSA	bovine serum albumin	FITC	fluorescein isothiocyanate
BV	brilliant violet	FL	follicular lymphoma
CAR	chimeric antigen receptro	FOLR-1	folate receptor-1
CAR-T cell	chimeric antigen receptor-bearing T-cell	FRET	Förster resonance energy transfer
CCR4	C-C Motif Chemokine Receptor 4	GC	germinal center
CD	cluster of differentiation	GCB	germinal center B cell
CDC	complement-dependent cytotoxicity	GC-DLBCL	germinal center diffuse large B-cell lymphoma
CDR	complementarity-determining region	gMFI	geometric mean fluorescence intensity
CDX	cell line-derived xenograft	HC	heavy chain
CFSE	carboxyfluorescein succinimidyl ester	HEK	human embryonic kidney
CH	heavy chain constant domain	HER(2, 3)	human epidermal growth factor receptor
CI	combination index	HERA	hexavalent receptor agonist
CL	light chain constant domain	HI-NHS	heat-inactivated normal human serum
CLL	chronic lymphocytic leukemia	HIV	human immunodeficiency virus
CODV-Ig	cross-over dual variable Ig-like protein	HLA	human leucocyte antigen
COVID-19	coronavirus disease 2019	hMDM	human monocyte-derived macrophage
		HRP	horseradish peroxidase
		Hx	hexamerization-enhanced

IC50	inhibiting concentration 50%	PerCP	peridinin chlorophyll
Ig	immunoglobulin (A, D, E, G, M)	Pen/strep	penicillin streptomycin
IgV	immunoglobulin variable region	PI	propidium iodide
IgC	immunoglobulin constant region	PI3K	phosphatidyl-4-5-biphosphate 3-kinase
IL	interleukin	PK	pharmacokinetics
IP	intraperitoneal	RGE	G236R, E430G, K439E
ITAM	immunoreceptor tyrosine-based activation motif	RLU	relative luminescence units
ITIM	immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif	RNA	ribonucleic acid
IV	intravenous	RR	relapsed/refractory
LC	light chain	RT	room temperature
LN	lymph node	SARS-CoV-2	severe acute respiratory syndrome coronavirus 2
mAb	monoclonal antibody	SC	subcutaneous
MAC	membrane attack complex	sdAb	single-domain antibody
MCL	mantle cell lymphoma	SCID	severely combined immunodeficient
mCRC	metastatic colorectal cancer	SD	standard deviation
mCRP	membrane complement regulatory protein	SEM	standard error of the mean
M-CSF	macrophage colony stimulating factor	SHM	somatic hypermutation
MESF	molecules of equivalent soluble fluorophores	SMIP	small immune-pharmaceutical protein
MET	tyrosine-protein kinase Met	SOCS3	suppressor of cytokine signalling 3
MFI	mean fluorescence intensity	TCR	T-cell receptor
MHC	major histocompatibility complex	TEM	tetraspanin-enriched microdomain
MM	multiple myeloma	TI	therapeutic index
MNC	mono nuclear cells	TI	test item
MPER	membrane-proximal external region	TNFR	tumor necrosis factor receptor
MoA	mechanism of action	TNFRSF	tumor necrosis factor receptor super family
MZL	marginal zone lymphoma	TRAIL	tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand
NC	negative control	WB	whole blood
ND	newly diagnosed	WT	wild type
ND	not determined	VHH	single domain antibody
NHS	normal human serum	ZEBOV	Zaire ebolavirus
NHL	non-hodgkin's lymphoma		
NK	natural killer		
NKT	natural killer T cell		
NOS	not otherwise specified		
NSCLC	non-small cell lung cancer		
OX40	tumor necrosis factor receptor superfamily member 4		
PBMC	peripheral blood mononuclear cells		
PBS	phosphate buffered saline		
PBST	phosphate buffer saline supplemented with tween		
PC	positive control		
PCD	programmed cell death		
PDX	patient-derived xenograft		
PE	R-Phycoerythrin		

CURRICULUM VITAE

Simone Charlotte Oostindie was born on September 17, 1990 in Delft, The Netherlands. After finishing her high school at Lyceum de Hoven in Gorinchem in 2008, she studied Biology at Wageningen University & Research (WUR). In 2012, she received her Bachelor's degree and continued with her Master's degree Biology, which she received in 2014. During her Master's degree, she performed internships at The Walter and Eliza Hall Institute of Medical Research in Australia, where she studied the effect of regulatory signals on lymphocyte proliferation and survival and at Genmab, where she worked on synergistic antibody combinations targeting B-cell malignancies. In January 2015, she initially started as a research associate at Genmab in the Antibody Research and Technology department working on the discovery of novel technology platforms for the generation of differentiated therapeutic antibodies. She was then offered a PhD position under the supervision of Prof. Dr. Paul W.H.I. Parren and Dr. Esther C.W. Breij. During her PhD program, she worked in the Antibody Research and Technology department to study antibody clustering mechanisms to enhance therapeutic potency, as well as in the Translational Research department, where she was involved in the preclinical development of DuoHexaBody-CD37. The results of these studies are presented in this thesis.

