

Abstrakt

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Mgr. Petra Ondrašáková

Školitel: doc. PharmDr. Přemysl Mladěnka, Ph.D.

Špecializovaný školitel: Dr. Haider Sami, Viedenská univerzita, Katedra klinickej farmácie a diagnostiky

Název rigorózní práce: Optimalizácia LbL kapsúl PEI a pDNA

Cieľom tejto práce bolo vytvoriť nevírový nosič (kapsulu) plasmidu DNA (pDNA) obsahujúci polymér polyethylénimín (PEI), ktorý prejde do jadra rakovinovej bunky s cieľom indukovať expresiu chýbajúcej bielkoviny, ktorá stojí za vznikom choroby.

Ako prvé bolo potrebné vytvoriť stabilnú kapsulu metódou vrstvenia (LbL), ktorá obsahuje polymér PEI. Tento polymér má každý tretí atóm dusík, ktorý môže byť protonizovaný, má vysokú transfekčnú účinnosť a stabilitu.

Pri tvorbe kapsule som nadviazala na moju diplomovú prácu a pokračovala som v optimalizácii správnej kombinácie polymérov, ktoré sa vrstvi na jadro CaCO_3 . Bolo potrebné získať biodegradovateľnú kapsulu a následne do nej inkorporovať pDNA.

Fluorescenčne značený PEI bol použitý, aby sa mohol pomocou fluorescenčného mikroskopu potvrdiť vznik kapsúl. Následne bol rastovací elektrónový mikroskop použitý na presnejšiu vizualizáciu kapsúl.

Ultrafialovo-viditeľná spektroskopia a Dapi farbenie boli použité s cieľom overiť, či bol plasmid DNA do kapsule naviazaný.

Ďalším krokom boli *in vitro* bunkové experimenty na bunkách myšieho nádoru pfs 4T1 s kapsulou obsahujúcou pDNA a to konkrétne skúmanie prestupu nevírového nosiča (kapsuly) do bunky a jeho cytotoxicita. Na zobrazenie účinnosti bol použitý fluorescenčný mikroskop.

2 typy kapsúl - jeden so sieťovaným lineárnym polyethylenimínom (CL-LPEI) a poly(alylamín) a jeden s polyarginínom a CL-LPEI boli úspešne formulované, s minimálnou agregáciou, podrobené bunkovým experimentom a podľa mikroskopického pozorovania sa dá predpokladať, že prešli do buniek a sú biokompatibilné.