

Abstrakt v českém jazyce

Univerzita Karlova

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmakologie a toxikologie

Studentka: Mgr. Adriana Janečková

Školitel: Mgr. Pavel Bárta, Ph.D.

Název rigorózní práce: Studium vlivu množství přidaného chelatačního činidla na výsledek konjugace monoklonální protilátky

Monoklonální protilátky jsou v posledních několika desetiletích významným nástrojem nejenom pro terapii ale také pro diagnostiku infekčních, autoimunitních či nádorových onemocnění. Monoklonální protilátky se vedle svého terapeutického účinku staly i biologickými vektory pro látky s terapeutickým a diagnostickým významem. Vedle bakteriálních nebo rostlinných toxinů jsou monoklonální protilátky schopny doručit na místo jejich specifické vazby, tj. antigenu proti kterému byly připraveny, i radionuklidy, které jsou významné z hlediska radiodiagnostiky a radioterapie. Tyto emitory radioaktivního záření se mohou na molekulu vázat buď přímo například v případě halogenace nebo nepřímo. Posledně zmíněný způsob je nejrozšířenější z hlediska větší stability a většího počtu radionuklidů, které se tak mohou pomocí protilátek transportovat. Sloučeninami, které umožňují vazbu radionuklidu na molekulu monoklonální protilátky, jsou bifunkční chelatační činidla (BFC). Míra vazby, tj. konjugace, BFC na molekulu protilátky závisí na vlastnostech samotného chelátoru a také počtu a přístupnosti vazebných míst na molekule protilátky. Cílem předkládané práce bylo vyvinout postup pro kvantifikaci míry konjugace zvolené monoklonální protilátky cetuximab vybranými chelatačními činidly DTPA, DOTA a NOTA a také zjistit optimální poměr látkových množství protilátka:chelátor pro nejlepší výtěžek konjugace.

Monoklonální protilátka cetuximab byla konjugována s jednotlivými chelatačními činidly DTPA, DOTA a NOTA v následujících poměrech látkových množství 1:1, 1:5, 1:20, 1:50 a 1:100 (cetuximab:BFC). Konjugace probíhala v konjugačním pufru NaHCO_3 o koncentraci 0,1 M po dobu 2,5 hodiny při teplotě 37 °C. Pomocí metody Bradford Protein Assay byla stanovena koncentrace konjugované protilátky a metodou Arsenazo III byl zjištěn počet molekul konjugovaného chelátoru na molekule protilátky cetuximab.

Výsledkem experimentální práce bylo úspěšné zavedení a ověření vhodnosti metody Arsenazo III pro kvantifikaci imunokonjugace a zjištění vlivu množství přidaného chelátoru na výslednou míru konjugace monoklonální protilátky cetuximab vybranými BFC. Pro testované chelátory byl pro poměry látkových množství 1:1, 1:5, 1:20, 1:50 a 1:100 (cetuximab:chelátor) zjištěn následující počet molekul konjugovaného chelátoru na molekule protilátky, pro DTPA 14,8, 18,7, 15,3, 25,1 a 31,3; pro DOTA 3,3, 2,9, 3,3, 5,0 a 7,7 a pro NOTA: 1,2, 1,5, 12,6, 34,8 a 58,8. Navíc byl zjištěn optimální poměr látkových množství 1:5, 1:50 a 1:20 (cetuximab:BFC) pro chelátory DTPA, DOTA a NOTA v tomto pořadí.

Závěrem lze konstatovat, že byla úspěšně aplikována metoda Arsenazo III pro stanovení míry konjugace monoklonální protilátky. Metoda ve třech opakování pro zvolené chelátory a poměry látkových množství cetuximab:BFC reprodukovatelně kvantifikovala množství vázaného chelátoru.