

Anna Maria Serwotka-Suszczak

Koniugaty białek wiążących integrynę $\alpha_v\beta_3$ i HER2 do wykorzystania w terapiach przeciwnowotworowych

Jednym z najczęściej stosowanych rodzajów leczenia nowotworów jest chemioterapia. Ze względu na specyficzność względem komórek dzielących się, a nie wyłącznie komórek nowotworowych, obarczona jest ona dużą ilością poważnych skutków ubocznych wpływających na standard życia pacjentów oraz ogólną skuteczność leczenia. Próbą połączenia wysokiej skuteczności terapii z jej specyficznością wpływającą na ograniczenie skutków ubocznych jest wykorzystanie przeciwciał monoklonalnych połączonych z silnymi cytostatykami w postaci tzw. ADC (koniugaty przeciwciało-lek; ang. *antibody-drug conjugate*).

W niniejszej pracy skupiono się na opracowaniu dwóch koniugatów cytostatyków z białkami o właściwościach podobnych do przeciwciał, jednak różniących się głównie rozmiarem i stopniem skomplikowania pod względem struktury. Zabieg wykorzystania białek o takich cechach miał na celu wpłynięcie na ograniczenie wad ADC wynikających z obecności przeciwciał - głównie na zmniejszeniu kosztów i ułatwieniu produkcji.

W niniejszym doktoracie zaprojektowano dwa koniugaty białek - diaffibody anty-HER2 oraz scFv anty-integryna $\alpha_v\beta_3$ - z lekiem monometoloaurystatyną E (MMAE), bardzo silnym syntetycznym cytostatykiem będącym pochodną peptydów występujących naturalnie w ślimaku morskim *Dolabella auricularia*, hamującym podziały komórek poprzez blokowanie polimeryzacji tubuliny.

W ramach pracy zaprojektowano oraz nadprodukowano i oczyszczono oba białka, diaffibody anty-HER2 oraz scFv anty-integryna $\alpha_v\beta_3$, oraz wykonano ich charakterystykę biofizyczną mającą na celu głównie zbadanie ich oddziaływania z ligandami. W kolejnym etapie białka poddano koniugacji z cytostatykiem monometyloaurystatyną E, a koniugaty poddano dalszej analizie.

Przygotowane koniugaty analizowano pod kątem potencjału przeciwnowotworowego. Wykonano analizę ich wpływu na żywotność komórek nowotworowych charakteryzujących się nadprodukcją liganda, względem komórek kontrolnych. W przypadku koniugatu diaffibody anty-HER2-MMAE

wykazano stosunkowo wysoką cytotoksyczność, powodującą spadek żywotności komórek HER2-pozytywnych nawet do 10% oraz wyznaczono współczynnik IC_{50} w zakresie 1 - 10 nM w zależności od linii komórkowej. Słabsze wyniki uzyskano dla koniugatu scFv anty-integryna $\alpha_v\beta_3$ -MMAE, wywołującego spadek żywotności komórek zawierających integrynę $\alpha_v\beta_3$ maksymalnie do 20%, jednak przy zastosowaniu stosunkowo wysokich stężeń. Współczynnik IC_{50} wyznaczony dla tego koniugatu wyniósł 115 nM.

Otrzymane w ramach pracy koniugaty wykazują potencjał do zastosowania w terapiach przeciwnowotworowych.

Słowa kluczowe:

terapię przeciwnowotworowe, HER2, integryna $\alpha_v\beta_3$, scFv, affibody, koniugaty