

Aleksandra Borek

TYTUŁ ROZPRAWY

Selekcja, optymalizacja i charakterystyka fragmentów przeciwciał scFv i scFv-Fc anty-FGFR2 oraz ich koniugacja z cytostatykami

STRESZCZENIE

Obecnie podstawę leczenia chorób nowotworowych w głównej mierze stanowi terapia systemowa, polegająca na stosowaniu leków cytotoksycznych. Jednak aktywność terapeutyczna większości leków przeciwnowotworowych stosowanych klinicznie jest ograniczona ze względu na ich ogólną toksyczność wobec komórek dzielących się, a zatem także komórek zdrowych. Rosnąca wiedza na temat procesów komórkowych, które wpływają na wzrost i przerzuty nowotworowe doprowadziła do opracowania terapii celowanych, charakteryzujących się wyższą skutecznością działania i ograniczoną toksycznością wobec tkanek zdrowych. Kluczowymi czynnikami w rozwoju tego typu terapii są wybór właściwego celu molekularnego oraz zaprojektowanie cząsteczek wykazujących specyficzną specyficzność wobec antygeny. Doskonały cel terapeutyczny w terapiach przeciwnowotworowych może stanowić receptor 2 czynnika wzrostu fibroblastów (FGFR2), którego nadprodukcja związana jest z występowaniem wielu rodzajów nowotworów, takich jak rak żołądka, jelita grubego, piersi czy endometrium.

W niniejszej pracy, w celu uzyskania przeciwciał w formacie scFv specyficznych wobec zewnątrzkomórkowej domeny FGFR2 (ECD_FGFR2), przeprowadzono ich selekcję z bibliotek Tomlinson I oraz J z użyciem technologii *phage display*. W ich wyniku otrzymano kilka klonów scFv wykazujących wysoką specyficzność oraz wysokie powinowactwo wiązania do receptora FGFR2, o czym świadczą uzyskane wartości K_D , mieszczące się w zakresie nanomolowym. Wariant scFvF7 charakteryzujący się najwyższym powinowactwem do receptora FGFR2, poddano procesowi dojrzewania powinowactwa oraz reformatowaniu do formatów biwalentnych w celu uzyskania cząsteczek o zwiększonej awidności oraz o wyższej sile wiązania białka antygenowego.

W kolejnej części pracy zaprojektowano dwa koniugaty białek – scFvF7 oraz scFvF7-Fc – z lekiem monometolaurystatyną E (MMAE), bardzo silnym syntetycznym cytostatykiem będącym pochodną peptydów występujących naturalnie w ślimaku morskim *Dolabella auricularia*, hamującym podziały komórek poprzez blokowanie polimeryzacji tubuliny. Otrzymane koniugaty scFv

z czynnikiem cytotoksycznym są analogicznymi do opracowywanych obecnie leków opartych o przeciwciała połączone ze związkami o aktywności cytotoksycznej (ADC, ang. *antibody-drug conjugates*), których zastosowanie umożliwiło bardziej selektywne i skuteczniejsze dostarczanie leku do miejsca zmienionego chorobowo, a przez to bardziej specyficzną eliminację komórek nowotworowych.

Celem kolejnego etapu pracy było potwierdzenie aktywności przeciwnowotworowej przygotowanych koniugatów. Przeprowadzono analizę ich wpływu na żywotność komórek nowotworowych charakteryzujących się nadprodukcją liganda, względem komórek kontrolnych. W przypadku koniugatu scFvF7-Fc-MMAE wykazano wysoką cytotoksyczność, powodującą spadek żywotności komórek FGFR2-pozytywnych nawet do 5% oraz wyznaczono współczynnik IC_{50} w zakresie od 0,89 do 7,7 nM w zależności od linii komórkowej. Koniugat scFvF7-MMAE także wykazywał stosunkowo wysoką cytotoksyczność, a wartości IC_{50} wobec linii z nadprodukcją FGFR2 wynosiły od 7,7 do 49,4 nM.

Podsumowując, otrzymane w ramach pracy koniugaty cząsteczek scFv oraz scFv-Fv z MMAE wykazują wysoki potencjał do zastosowania w terapiach przeciwnowotworowych.

