

E5.1. Tóth Gábor ÁOK V.

Biofizikai és Sejtbiológiai Intézet

TRASTUZUMAB F(AB)2 PREPARÁLÁSA ÉS IN VITRO KARAKTERIZÁLÁSA

A trastuzumab olyan, tumor terápiában alkalmazott ErbB2 célpontú humanizált monoklonális antitest, melyre egyszerre jellemző a terápiás siker és a magas rezisztencia arány. Míg a trastuzumab az ErbB2 leszabályozását fokozza, egy másik antitest, a pertuzumab az ErbB2 dimerizációs karjához kötődve annak heterodimerizációját gátolja. Állatkísérletek alapján kombinációjuk javíthatja a kezelés kimenetelét, akár molekuláris szintű folyamatok miatt (pl. hiperkeresztükötés alapú ErbB2 internalizáció fokozódás), akár sztérikusan komplementer kötőhelyeket kínálva NK-sejtek számára az ADCC folyamatában. Ezen biológiai utak elkülönítésére nyílhat mód az antitestek Fc rész nélküli, F(ab)2 fragmentumainak vizsgálatával. A kísérletek első fázisában létrehoztuk ezeket a fragmenteket és összehasonlítást végeztünk intakt párjaikkal in vitro.

Trastuzumab és pertuzumab F(ab)2-t pepszin-agaróz emésztéssel és gélszűrőssel nyertünk. Az antitestek kötőképességét és az Fc rész hiányát immunfluoreszcens jelöléssel áramlási citométeren vizsgáltuk. A Ki értékeket in vitro MTT alapú proliferációs kísérletekben határoztuk meg. Az ADCC vizsgálatát frissen izolált humán mononukleáris sejtekkel, valós idejű sejtadhéziós esszével végeztük.

Mivel a protein A és protein G a várározással ellentétben a F(ab)2-t is megkötötték, méretre és ionerősségre optimalizált gél kromatográfiát használtunk a megfelelő méretű fragmentumok szeparálására. Az Fc rész hiányát poliklonális anti-Fc immunfluoreszcenciás jelöléssel igazoltuk.

Az Fc régió hiánya nem befolyásolta jelentősen az antitestek önálló in vitro hatását sem a szenzitív BT474, sem a rezisztens JIMT-1 sejtek proliferációjára. Az egyetlen mérhető különbség a pertuzumab F(ab)2-nek a teljes antitesthez képest kissé megnövekedett ErbB1-ErbB2 dimerizációt gátló képessége volt, mely a csökkent Ki értékben is vissza tükröződött. Az in vitro proliferációs kísérletekben a két antitest kombinációja additív hatásúnak tűnt mind a teljes antitestek, mind a F(ab)2 esetében.

Az ADCC alapú ölési kísérletben az F(ab)2 nem fejtett ki hatást, míg a teljes antitest mediálta az ölést.

A továbbiakban a rendelkezésre álló antitest és F(ab)2 készlettel az in vivo kísérletek fogjuk elvégezni.

Témavezető: Dr. Vereb György