

Helsingin Yliopisto
Biotieteiden keskus, Biokemian osasto
Lisensiaattityö

Uusia kemiallisia menetelmiä proteiimirakenteen muuttamiseksi - syöpähakuisten vasta-ainekonjugaattien valmistaminen ja karakterisoiminen

Mervi Lankinen
Helsinki 1995

Syövän hoidossa vasta-ainemolekyylien käytön perusajatuksena on saada syöpähakuisten vasta-ainemolekyylien avulla tuhottua syöpäkudosta paikallisesti, jotta haitta muulle elimistölle jäisi mahdollisimman pieneksi. Syöpähakuisen biokonjugaattien valmistuksessa käytettyjen kemiallisten menetelmien täytyy olla sellaisia, että vasta-ainemolekyylin immunoreaktiivisuus säilyy ja immunogeenisyys pysyy mahdollisimman pienenä. Kahden proteiinin yhdistäminen perinteisin kemiallisin keinoin voi johtaa heteromeerisiin molekyyliin, joilla vain osalla on haluttu biologinen aktiivisuus.

Tämän lisensiaattityön tarkoituksena oli kehittää uusia kemiallisia menetelmiä biokonjugaattien rakentamiseksi. Muutokset pyrittiin keskittämään proteiinien biologisesti inaktiivisiin osiin siten, että syntyisi homogeneisia puhtaita konjugaatteja.

Ensimmäisessä osassa haluttiin muodostaa yhdiste $F(ab')_2$ -CPG2 käyttämällä paikkaspesifistä karbohyratsidireaktiota käänteisproteolyysin avulla. Monoklonaalisen vasta-aineen IgG1 A5B7:n $F(ab')_2$ -fragmentista ja mutatoidusta karboksypeptidaasi-G2:sta rakennettiin biokonjugaatti. Näin rakennettu konjugaatti säilytti biologisen aktiivisuutensa. Vastaava konjugaatti oli rakennettu myös perustuen lysiinisivuketjujen reaktioihin, mutta tämän konjugaatin biologinen aktiivisuus oli huonompi kuin tässä työssä valmistetun konjugaatin.

Toisessa osassa pyrittiin kehittämään keinoja käyttää vasta-ainemolekyylin raskaiden ketjujen välisiä reaktiivisia kysteiinejä konjugaattien muodostuksessa. Toisaalta oli tarve stabiloida raskaiden ketjujen rikkisillat toisaalta hyödyntää paikkaspesifinen reaktiomahdollisuus ja rakentaa konjugaatteja, joissa rakennusosina oli Fab'-fragmentteja. Fab'-fragmenttien käyttö rakennusaineena mahdollistaa valenssin kasvaessa aviditeetin lisäyksen tai bifunktionaalisten vasta-ainekonjugaattien rakentamisen. Monoklonaalisen vasta-aineen IgG1 Mab35:n Fab'-fragmenteista rakennettiin $F(ab')_2$ - ja $F(ab')_3$ -konjugaatteja. Syntyneet konjugaatit olivat kestäviä ja niiden biologinen aktiivisuus oli säilynyt. Näiden tulosten pohjalta *in vivo*-kokeita vielä jatketaan. Lisäksi tässä työssä käytettyjä kemiallisia reaktioita voidaan yrittää soveltaa myös muihin biokonjugaatteihin.