

Abstrakt

Rychlý vývoj technik genového inženýrství, zejména metod pro *in vitro* řízenou evoluci a kombinatorickou mutagenezi, umožnil rychlý rozvoj nových vazebných proteinů pro téměř jakýkoli požadovaný antigen jako alternativu k dnes široce používaným protilátkám. Tyto tzv. scaffolds jsou často odvozeny od malých proteinových domén s užitečnými biofyzikálními vlastnostmi. Zatímco na biofarmaceutickém trhu stále dominují monoklonální protilátky, možnost snadné cílené modifikace vazebných proteinů je předurčuje především pro použití v diagnostice.

ABD scaffold, odvozený od albumin vázící domény streptokokového proteinu G tvořené třemi spojenými alfa-šroubovicemi, patří do rodiny malých vazebných domén. V naší laboratoři byla na základě ABD scaffoldu vyvinuta vysoce komplexní kombinatorická knihovna vazebných proteinů. Tato knihovna byla použita k selekci nových vazebných proteinů pro lidské sérové biomarkery rakoviny prostaty PSP94, KLK2, KLK11, jež mohou být použity k vývoji nových multifaktoriálních biosenzorů pro přesnější diagnostiku rakoviny prostaty.

V druhé části dizertace je popsán vývoj vazebných proteinů odvozených od ABD scaffoldu určených pro selektivní rozpoznání různých fenotypů cirkulujících nádorových buněk jako součást mikrofluidního čipu vyvíjeného pro diagnostiku plicního adenokarcinomu. Vedle tohoto již osvědčeného modelu byly k selekci vazebných proteinů použity nově vyvinuté kombinatorické knihovny odvozené od Myomedinového scaffoldu, jehož odlišná struktura vazebného povrchu by mohla sloužit k rozpoznání jiných epitopů na cílových molekulách.

Ve třetí části práce byla vytvořena sbírka unikátních vazebných proteinů odvozených od ABD scaffoldu a cílených na podjednotku B Shiga toxinu (Stx). Tyto varianty byly optimalizovány pro orientované vystavení na povrchu buněk *Lactococcus lactis* a funkčně charakterizovány. Po následném vylepšení vazebných vlastností některých vybraných variant by mohly takto upravené bakterie *L. lactis* sloužit k odstranění Stx z lidského gastrointestinálního traktu, a tím ke snížení účinku patogenních bakterií.

Poslední část práce je zaměřena na vývoj unikátních polyvalentních vakcín pro imunizaci selat a telat proti střevním onemocněním. Současné vakcíny nabízejí jen omezený počet valencí a nenavozují ochranu proti některým závažným průjmovým onemocněním. Pro úspěšné uvedení vakcín na trh byly vyvinuty spolehlivé ELISA soupravy a protokoly pro ověření a validaci jejich kvality. Tyto ELISA sety jsou schopny detekovat sérové protilátky proti 10 faktorům patogenity a v současné době jsou používány v procesu validace před vstupem vakcín na trh ve 12 evropských zemích.