

Abstrakt

Peptidy tvoří synteticky dostupné a snadno derivatizovatelné „lešení“, na jehož základě je možno vyvíjet ligandy zaměřené na široké spektrum biologických cílů. Tradiční postup k identifikaci těchto výchozích peptidů je příprava a testování kombinatoriálních knihoven. Kombinatoriální syntézu a následný screening je možné obejít využitím biologických systémů prezentace, identifikace a selekce peptidů založených na principu *in vitro* evoluce – tzv. display technik.

V této práci je představen vývoj automatizovaných řešení obou těchto přístupů. Prvním z nich je paralelní syntetizátor peptidů SPENSER vyvinutý v rámci tohoto diplomového projektu jako nástroj k hledání a optimalizaci peptidových ligandů, stejně jako k validaci ligandů nalezených display technikami. K popisu jeho funkčních omezení bylo připraveno několik knihoven sestávajících celkem z 1 052 peptidů. Reprezentativní vzorek 154 preparací, představující 14,6 % analytické pokrytí připravených knihoven, vykazoval dle LC-MS průměrnou čistotu 67 ± 19 %.

Na předložených knihovnách je ilustrováno, že SPENSER je vhodným nástrojem pro paralelní syntézu lineárních i disulfidově cyklizovaných peptidů s omezenou variabilitou, či knihoven sestávajících z krátkých peptidů. Jeho nízký rozsah reakce ve srovnání s komerčně dostupnými syntetizátory dále umožňuje hospodárnější přípravu knihoven z drahých stavebních bloků.

Dále je v této práci je představen protokol ToRNAdo jako automatizovaná varianta známé metody mRNA display s minimalizovaným počtem operací, proveditelných v plném rozsahu integrovanou sestavou složenou z komerčně dostupných řešení – pipetovacího robota Agilent Bravo, PCR cyklieru Biometra T-Gradient a robotické ruky SCARA.

Validace protokolu byla provedena na modelové binární knihovně sestávající ze sekvencí kódujících epitopové značky FLAG a HA. Obě modelové sekvence byly úspěšně selektovány odpovídajícími protilátkami. Diskutovány jsou nutné úpravy protokolu před jeho plnou využitelností mimo modelové knihovny.

Klíčová slova: Testování s vysokou propustností; peptidová syntéza; *in vitro* evoluce; molekulární rozpoznávání; vývoj metod