Cancer Immunotherapy exploiting engineered antibody fragments against prostate-specific membrane antigen

Abstract (Czech)

Rakovina prostaty (PCa) představuje jednu z hlavních příčin mortality související s rakovinou v populaci mužů. Tento stav vyžaduje vývoj nových terapeutických přístupů přesahujících současnou konvenční léčbu s omezenou účinností. Prostatický specifický membránový antigen (PSMA) je jedním z nejpokročilejších biomarkerů pro zobrazování i terapii PCa díky své expresi specificky výrazně zvýšené neoplastických tkáních PCa a v metastatickém kastračně rezistentním karcinomu prostaty. Imunoterapeutické postupy zaměřené na PSMA skýtají v současné době velký potenciál jakožto nová platforma pro účinnou léčbu onemocnění.

Předkládaná doktorská práce je zaměřena na inženýrství protilátkových fragmentů a fúzních proteinů odvozených z vysoce afinní monoklonální protilátky 5D3 specificky rozpoznávající PSMA. Cílem vývoje těchto molekul bylo dosažení specifického spojení imunitních buněk s biomarkerem PSMA vyvolávajícího eliminaci buněk prezentujících tento antigen. Za tímto účelem jsme zkonstruovali jednořetězcové variabilní fragmenty (scFv) protilátky 5D3, které byly následně fúzovány se sekvencemi anti-CD3 scFv a CP33, čímž jsme vytvořili fúzní proteiny specificky spojující imunitní buňky s T lymfocyty (BiTE) nebo s monocyty (5D3-CP33). Fúzní molekuly byly produkovány pomocí hmyzího expresního systému, dále byly purifikovány a charakterizovány pomocí permeační gelové chromatografie, nano-diferenční skenovací fluorimetrie, ELISA a průtokové cytometrie. Testy na buněčných kulturách *in vitro* odhalily, že již subnanomolární koncentrace BiTE i 5D3-CP33 molekul dokážou specificky eliminovat nádorové buňky vystavující PSMA na svém povrchu. Data uvedená v práci ukazují, že vyvinuté molekuly lze použít pro vývoj nástrojů nové generace vhodných pro imunoterapii PCa.