

Tato práce popisuje tvorbu a vlastnosti disulfidicky stabilizovaného variabilního fragmentu protilátky 5D3 specificky rozpoznávající glutamátcarboxypeptidasu II, antigen úzce související s karcinomem prostaty i jinými nádorovými onemocněními. Malé protilátkové deriváty jsou v současnosti masivně využívány pro vývoj diagnostických a terapeutických nástrojů. Některé typy těchto derivátů však vykazují sníženou stabilitu terciární struktury, což může vést k nízkému výtěžku při produkci anebo ke zhoršení až ztrátě funkce proteinu. Tento problém je často řešen zaváděním strukturních změn pomocí proteinového inženýrství.

Cílem práce bylo zavedení interdoménového disulfidického můstku do struktury jednořetězcového variabilního fragmentu protilátky za účelem zvýšení jeho stability. Vliv zavedené modifikace na stabilitu proteinu byl posuzován z hlediska výtěžku purifikovaného proteinu a jeho afinity k antigenu. Vyvíjený protilátkový derivát byl produkován v prokaryotickém expresním systému *Escherichia coli* s využitím signální sekvence směřující produkovaný derivát do periplasmatického prostoru. Snaha o stabilizaci proteinu probíhala pomocí mutagenese na pozicích G44 variabilní domény těžkého řetězce a G100 variabilní domény lehkého řetězce záměnou glycinů za cysteiny. Charakterizace purifikovaného proteinu proběhla s využitím metody ELISA. Práce dále ukazuje vyřešenou trojrozměrnou strukturu prekursoru produkovaného proteinu, jednořetězcového variabilního fragmentu protilátky 5D3.

Hlavním výsledkem experimentální části této práce bylo zjištění, že zvolená strategie stabilizace nevede ke kýženému výsledku díky příliš velké vzdálenosti mezi mutovanými rezidui, která nedovoluje vzniknout stabilizujícím disulfidickým vazbám. Zároveň však jsou diskutovány alternativní přístupy potenciálně vedoucí ke stabilizaci jednořetězcového fragmentu. Také byly naměřeny hodnoty disociačních konstant protilátky 5D3 a jejích dvou fragmentů. V případě intaktní protilátky souhlasil získaný výsledek s dostupnou literaturou, v případě jednořetězcových variabilních fragmentů se výsledek s literaturou rozcházel. Tento rozpor vznikl pravděpodobně díky nižší čistotě purifikovaných testovaných proteinů.