

ZASTOSOWANIE TECHNIK IZOTOPOWYCH W MONITOROWANIU BIODYSTRYBUCJI MATERIAŁU BIOLOGICZNEGO

Doktorant: mgr Łukasz Cheda (UW)

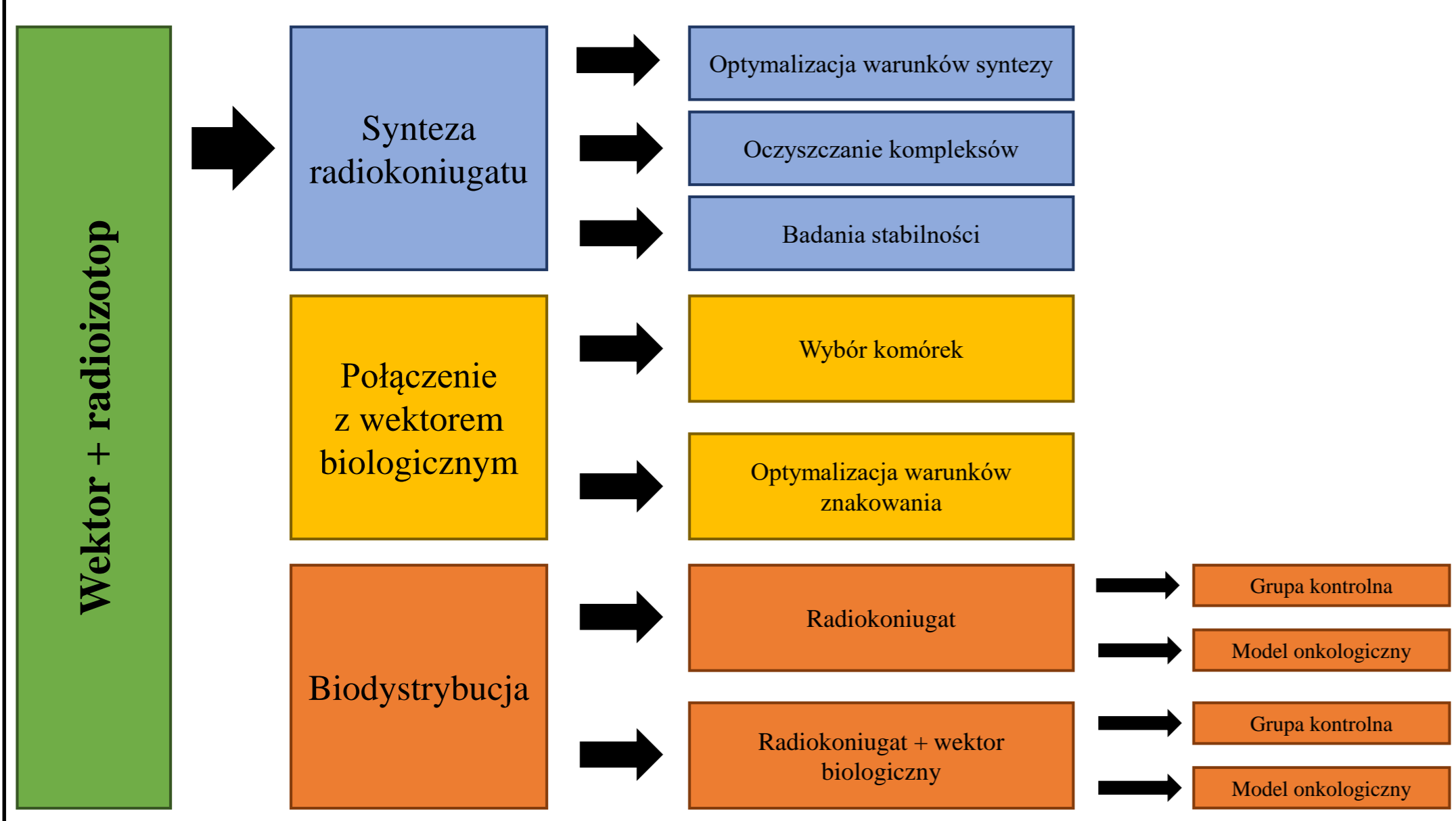
Opiekunowie pracy: dr hab. Zbigniew Rogulski (UW), prof. dr hab. Magdalena Król (SGGW)

ZAŁOŻENIA PROJEKTU

Celem badań jest opracowanie metody monitorowania miejsc akumulacji związków chemicznych oraz komórek technikami obrazowania molekularnego, wykorzystującymi izotopy promieniotwórcze. W ramach prowadzonych prac weryfikowano możliwość zastosowania ferrytyn jako alternatywnego systemu dostarczania leków do miejsc patologicznie zmienionych w organizmie. Ferrytyny to rodzina białek o strukturze trójwymiarowej klatki, pozwalająca na przechowywanie i efektywny transport żelaza w tkankach. Wzmoczone zapotrzebowanie pewnych nowotworów na żelazo, objawiające się ekspresją receptora TfR1 na powierzchni komórek pozwala na podjęcie prób zastosowania proponowanych białek do diagnostyki i terapii tych schorzeń. Kluczową dla projektu właściwością klatek apoferrytynowych jest możliwość modyfikacji kształtu białka (otwierania i zamykania klatki) w szerokim zakresie pH. Pozwala to na umieszczenie we wnętrzu sferycznej cząsteczki prostych związków czy jonów tj. chemioterapeutyki czy radioizotopy. Wysokie stężenie ferrytyn zaobserwowano również w komórkach fagocytujących. W ramach prowadzonych prac postanowiono wykorzystać wybrane komórki układu immunologicznego do transportu znakowanych ferrytyn do zmian zapalnych i nowotworowych.

Badania wstępne wykonane z użyciem izotopów ^{18}F i ^{64}Cu oraz dostępne dane literaturowe wskazują na najwyższe stężenie związku promieniotwórczego w tkance nowotworowej po ok. 24h od iniekcji. W trakcie badań podjęto próby uzyskania ferrytyny znakowanej izotopami ^{90}Y , ^{131}I , ^{177}Lu . Przed przystąpieniem do badań z wykorzystaniem zwierząt laboratoryjnych podjęto próby optymalizacji procesu przyłączania radionuklidów do białka, oczyszczania i formułacji uzyskanego preparatu, określenia stabilności wytworzonego związku oraz przyłączenia radiokoniugatów do wektora biologicznego.

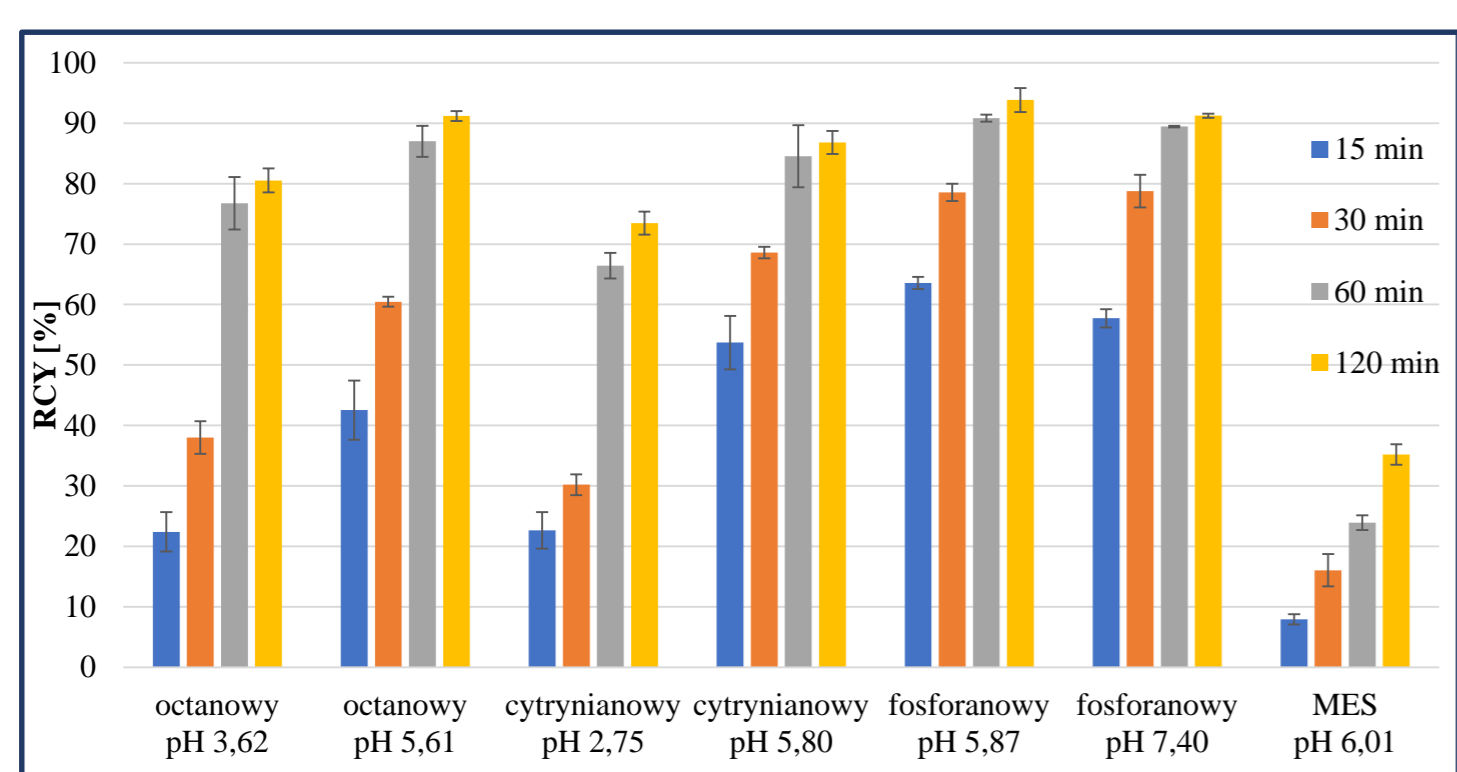
PLAN BADAŃ



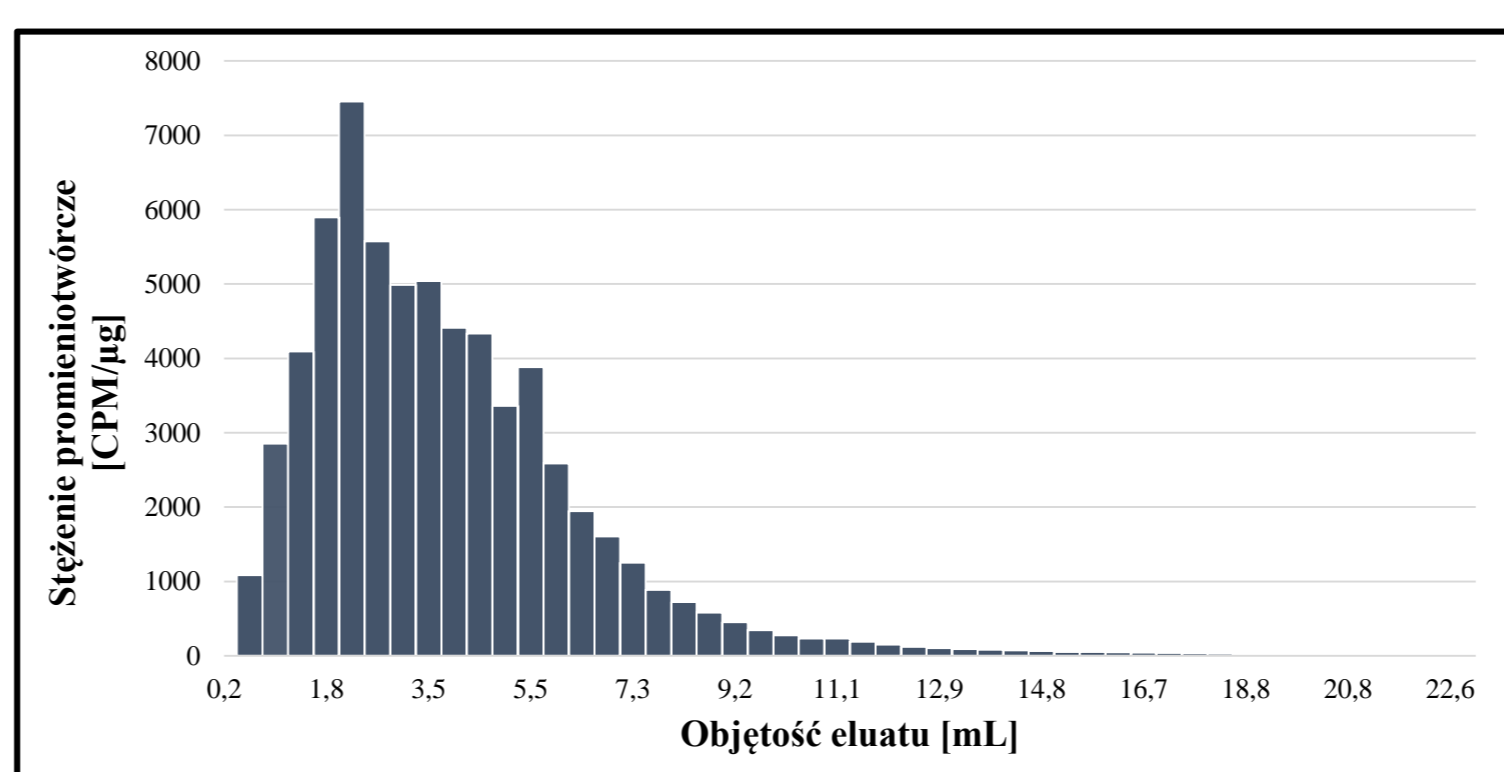
METODY

- Reakcja jodowania prowadzona w obecności czynnika utleniającego: IODO-GEN (1,3,4,6-tetrachloro-3 α ,6 α -difenyloglikolurylu).
- Proces przyłączania radionuklidów metalicznych prowadzony w mieszaninach znakujących o zróżnicowanym składzie i pH.
- Postęp reakcji i czystość otrzymanego produktu wyznaczono techniką chromatografii cienkowarstwowej.
- Radiokoniugat oddzielano od jonów na filtrach o zróżnicowanym MWCO oraz z wykorzystaniem mikrokolumn zawierających wypełnienie żelowe.
- Stabilność połączenia weryfikowano dla warunków przechowywania i fizjologicznych.
- Stężenie białka w produkcie wyznaczono techniką elektroforezy żelowej.
- Znakowanie komórek prowadzono w probówkach umieszczonych w termobloku oraz w nisko adherentnych butelkach hodowlanych umieszczonych w inkubatorze.

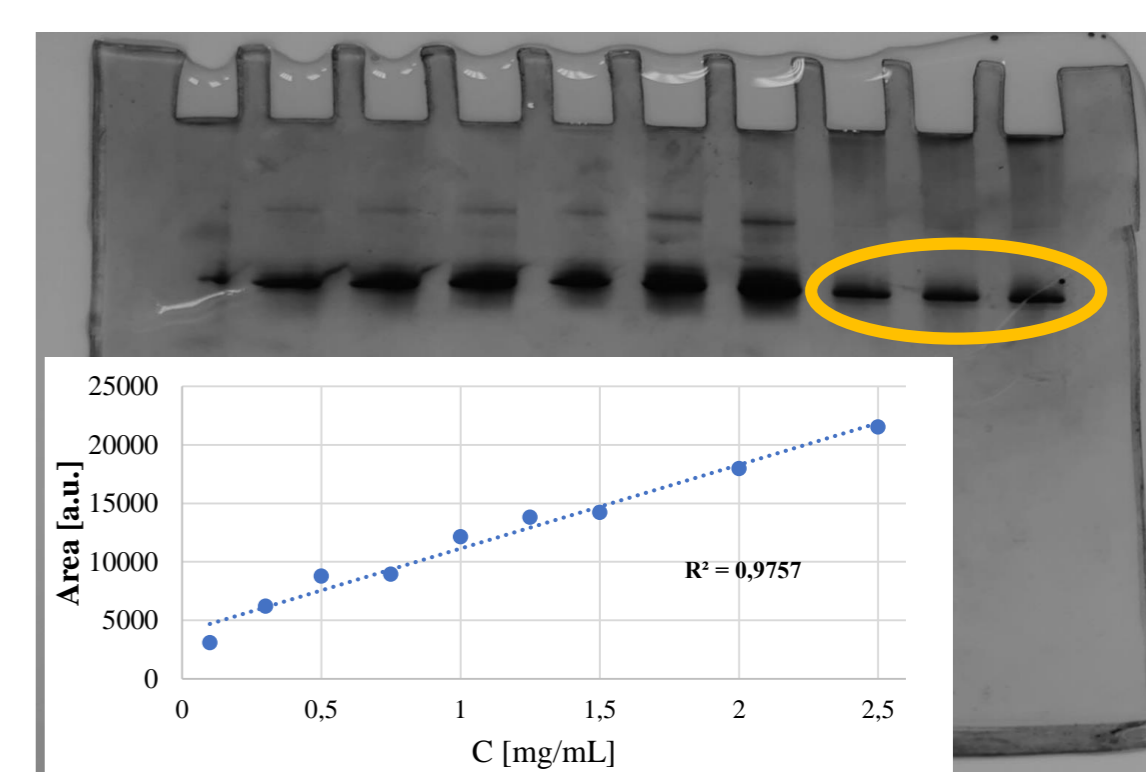
UZYSKANE WYNIKI



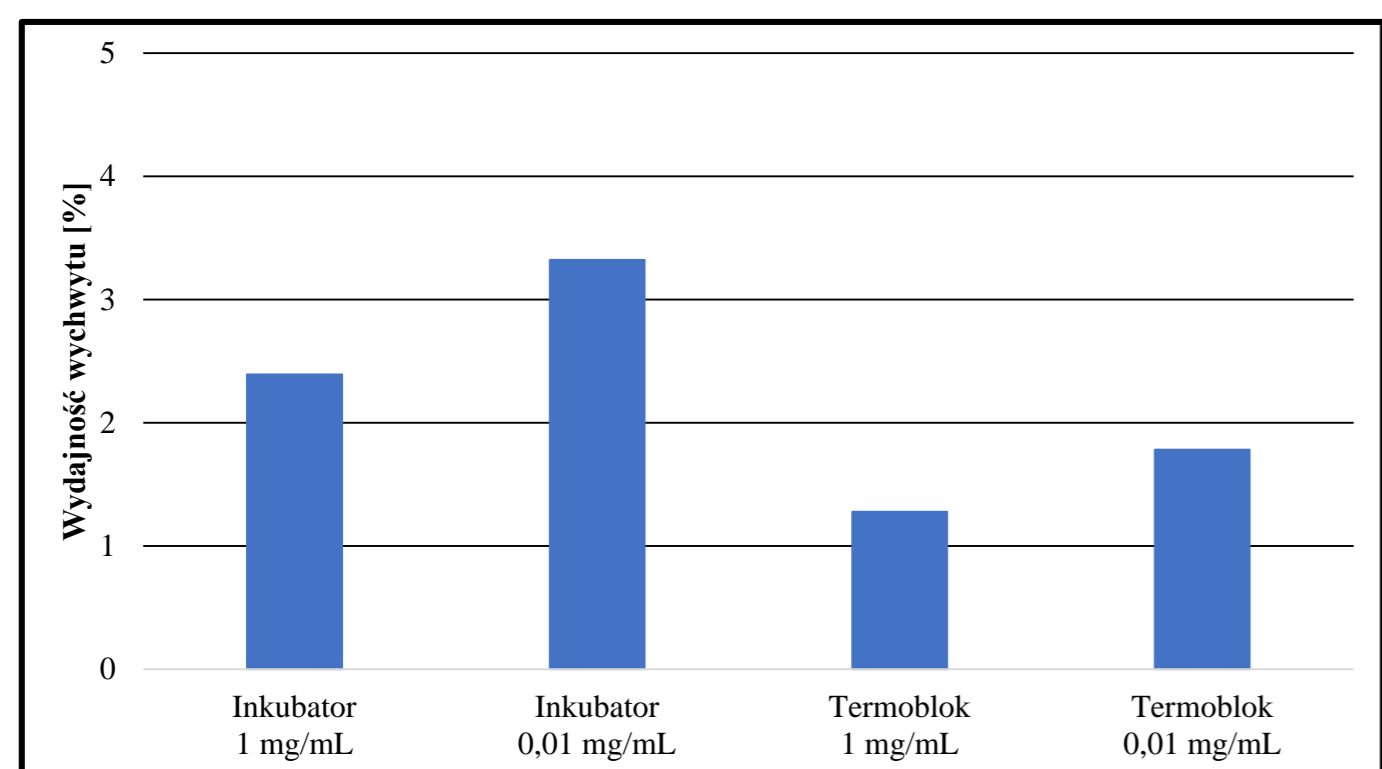
↑ Wpływ składu mieszaniny znakującej i czasu prowadzenia procesu na wydajność powstawania [^{131}I]jodoferrytyny.



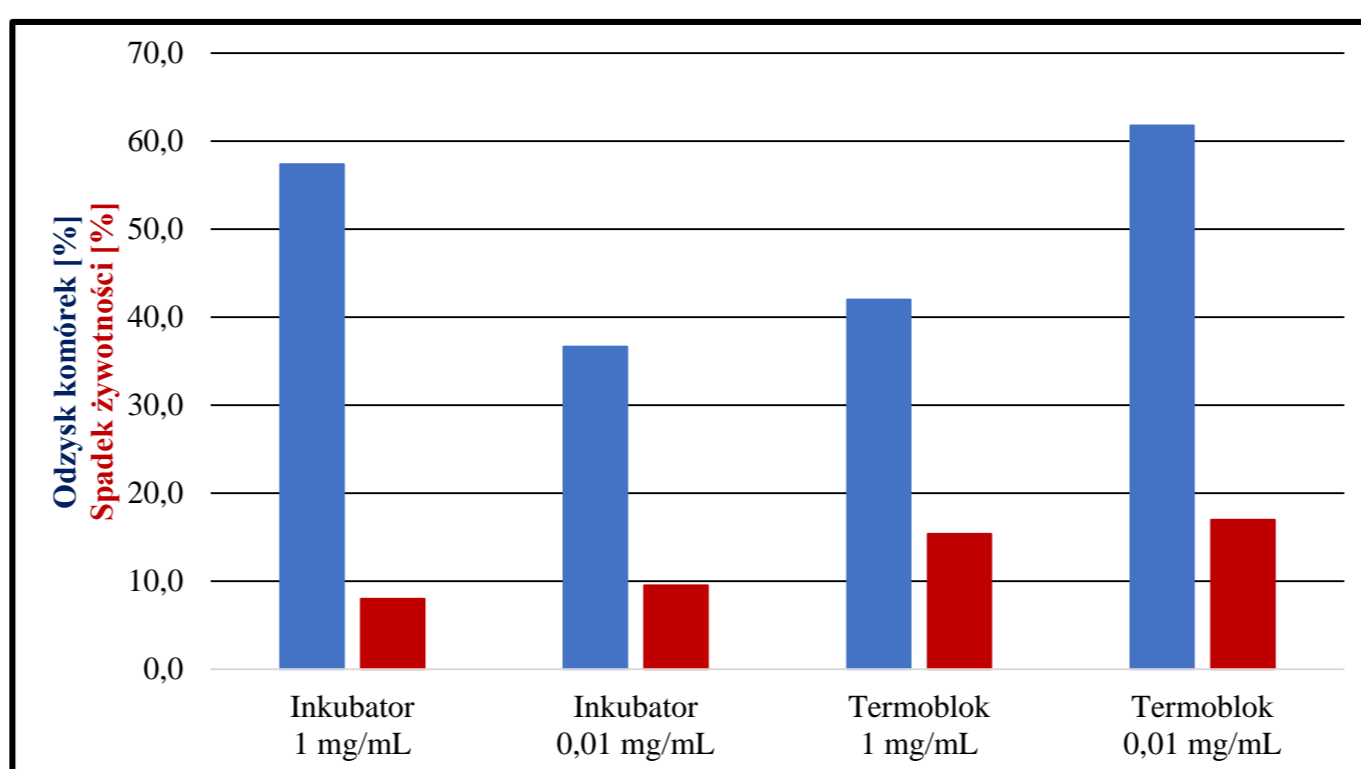
↑ Profil wymycia radiokoniugatu z kolumny wypełnionej złożem Sephadex G-25 o objętości 0,5 mL.



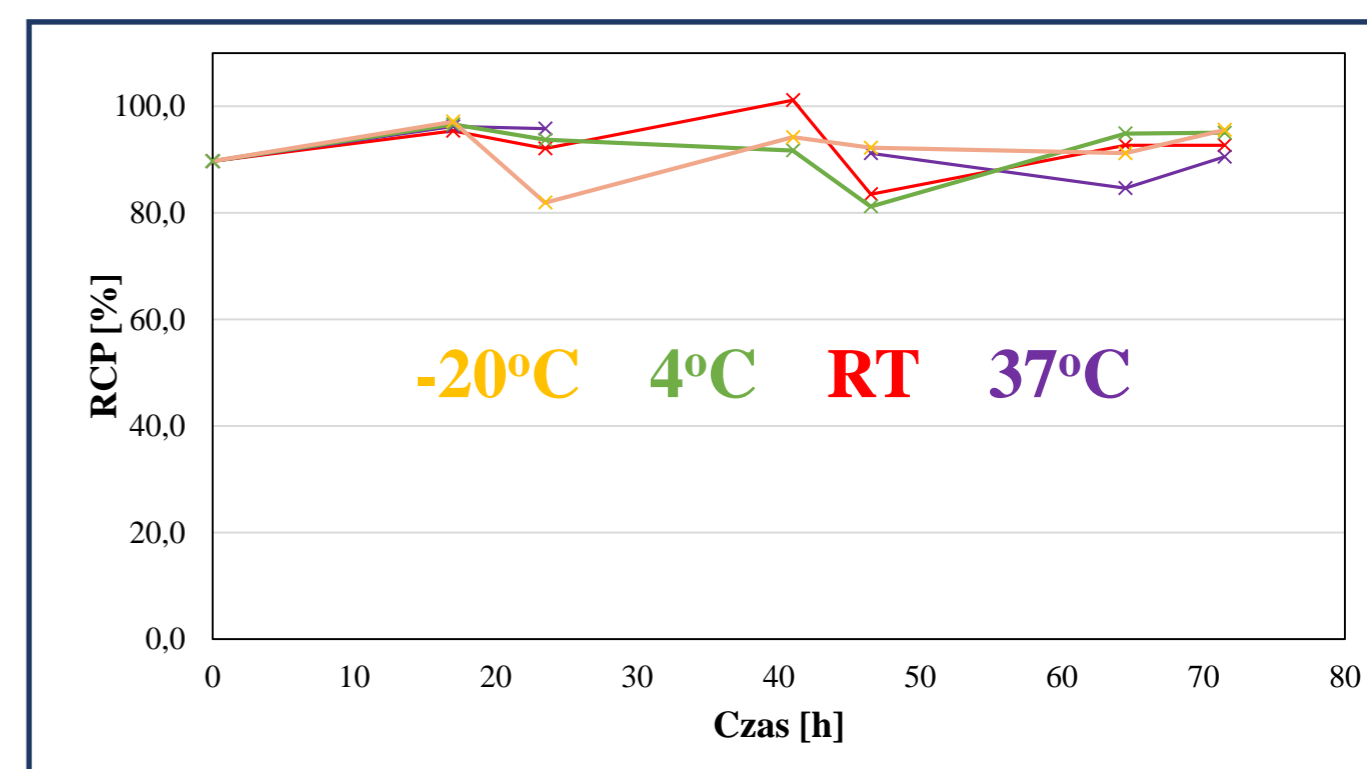
↑ Wyznaczenie stężenia białka w produkcie techniką elektroforezy żelowej.



↑ Wpływ stężenia białka i sposobu prowadzenia procesu na wydajność znakowania makrofagów.



↑ Wpływ stężenia białka i sposobu prowadzenia procesu na odzysk i spadek żywotności komórek.



↑ Pomiar stabilności uzyskiwanego produktu w zależności od temperatury inkubacji próbki.

OSIĄGNIĘCIA

- Uzyskano preparat o parametrach kwalifikujących go do dalszych doświadczeń *in vivo*.
- Współautorstwo w 11 publikacjach naukowych, w tym **5 z afiliacją RadFarm**.
- Współautorstwo w 4 komunikatach ustnych i 9 posterach na konferencjach krajowych i międzynarodowych.
- Pozyskano grant pt. „Ferrytyny znakowane izotopami – rozwój alternatywnego układu dostarczania leków” w ramach konkursu PRELUDIUM 18, finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki.
- Pozyskano „mikro-grant” pt. „Synteza 4- ^{18}F -(2S,4R)-fluoroglutaminy (4-FGln), znacznika do obrazowania zmian nowotworowych z zastosowaniem Pozytonowej Tomografii Emisyjnej (PET)” w ramach programu „Strategia Doskonałości-Uczelnia Badawcza”.
- Odytyo dwutygodniowy staż badawczy w Jagiellońskim Centrum Rozwoju Leków (JCET).