

Otrzymywanie przeciwciał IgY specyficznych wobec ludzkich markerów nowotworowych

Agnieszka Łupicka-Słowik

Streszczenie

Celem przedstawionej pracy było otrzymanie oraz analiza biochemiczna przeciwciał IgY specyficznych wobec ludzkich markerów nowotworowych. Otrzymane immunoglobuliny użyto do konstrukcji prototypów testów immunoenzymatycznych oraz lateralnych mogących znaleźć zastosowanie w diagnostyce serologicznej chorób nowotworowych oraz monitorowaniu postępu leczenia.

Jedną z zalet przeciwciał IgY, stanowiących interesującą alternatywę dla przeciwciał IgG, jest nieinwazyjna oraz wydajna metoda ich izolacji z żółtek kurzych jaj. Ponadto duża odległość filogenetyczna między ptakami a ssakami pozwala uzyskać przeciwciała specyficzne nawet wobec wysoce konserwatywnych antygenów ssaczy, których otrzymanie klasycznymi metodami immunizacji ssaków bywa często niemożliwe. Co istotne, przeciwciała IgY nie wykazują reaktywności z ludzkim czynnikiem reumatoidalnym, elementami systemu dopełniacza czy anty-mysimi przeciwciałami człowieka. Z tego też powodu wykorzystanie kurzych immunoglobulin w diagnostyce pozwala na zminimalizowanie niespecyficznych reakcji prowadzących do otrzymania fałszywie pozytywnych wyników w testach serologicznych.

W celu otrzymania specyficznych przeciwciał IgY przeprowadzono immunizację kurcząt natiwnymi białkami markerowymi oraz ich polipeptydowymi epitopami. Peptydowe fragmenty zostały wyselekcjonowane metodą modelowania molekularnego, zsyntetyzowane na podłożu stałym, a następnie związane z białkami nośnikowymi. Przeciwciała obecne w żółtku izolowano metodą precypitacji glikolem polietylenowym. Otrzymane przeciwciała poddano następnie analizie biochemicznej pozwalającej na określenie ich czystości, odpowiedzi układu immunologicznego zwierzęcia w postaci produkcji specyficznych immunoglobulin w czasie procesu immunizacji, miana przeciwciał oraz limitu detekcji antygeny. Warto podkreślić iż przeciwciała specyficzne wobec fragmentów epitopowych wykazały reaktywność krzyżową w stosunku do natiwnego białka markerowego. Dodatkowo otrzymane przeciwciała poddano oczyszczaniu z wykorzystaniem zarówno chromatografii cieczowej, jak i chromatografii powinowactwa.

W trakcie realizacji pracy doktorskiej przygotowano prototypy testów immunoenzymatycznych podwójnego wiązania służące do detekcji wybranych białek markerowych, które oparte zostały o otrzymane immunoglobuliny IgY w układzie IgY/IgY lub IgG/IgY. Wykonano także prototypy testów lateralnych do detekcji białek markerowych w oparciu o nanocząstki złota funkcjonalizowane specyficznymi przeciwciałami IgY.