

Apoferitin: Nanotransportér pro cílené dopravování léčiv

Dita Münzová

7.2.2014

RAKOVINA

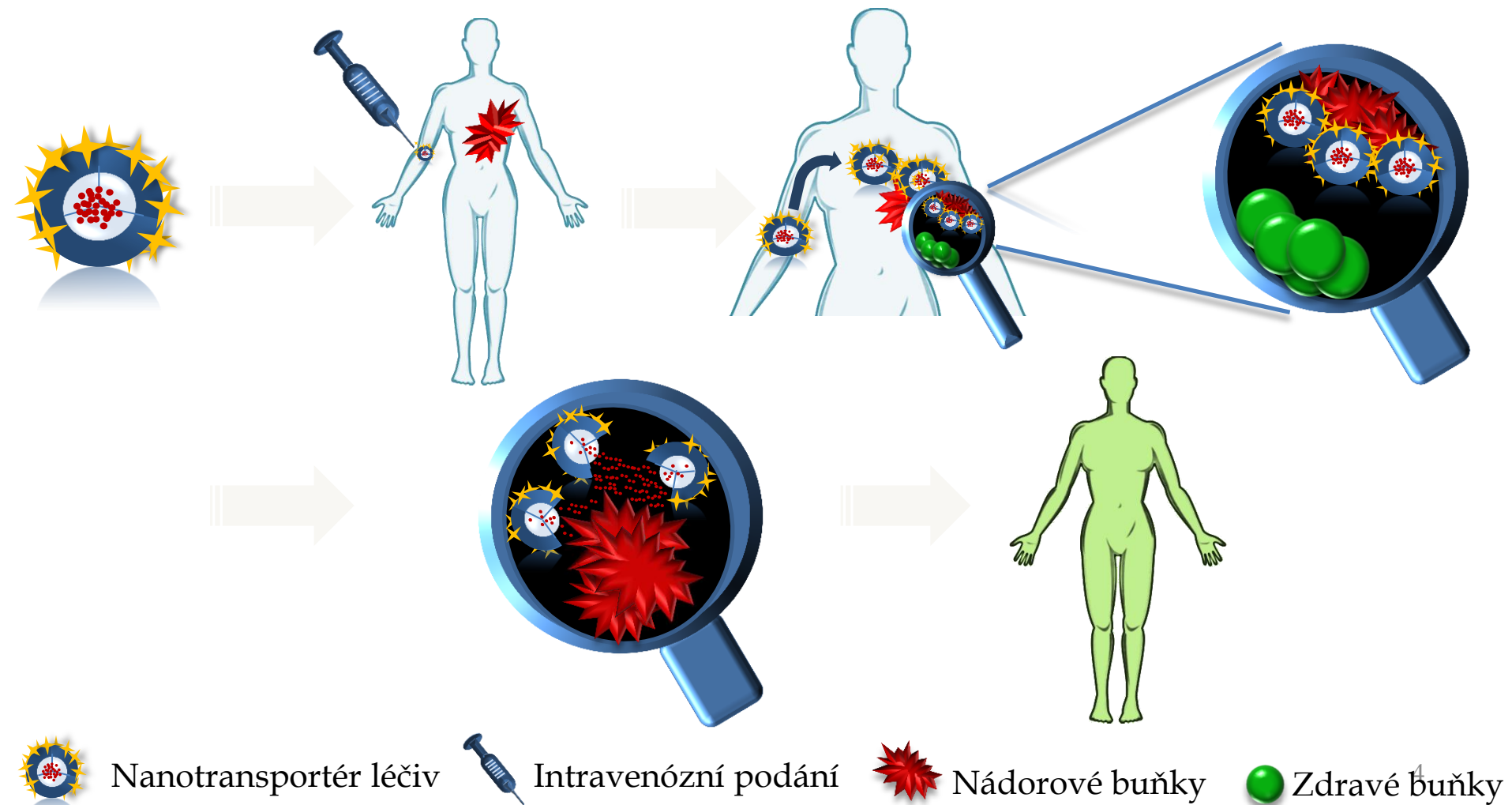
- Nekontrolované množení buněk, které ztrácí schopnost přirozené buněčné smrti



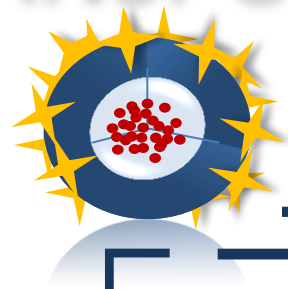
CÍLE PRÁCE

- Vytvoření nanotransportéru na bázi apoferritinu s enkapsulovaným doxorubicinem
- Prokázání vazby nanotransportéru se všemi komponentami
- Testování nanotransportéru na zdravých a rakovinných prostatických buňkách

OBECNÉ PŮSOBENÍ NANOTRANSPORTÉRŮ



NANOTRANSPORTÉRY



Anorganické

Kovové

 Zlaté nanočástice
 6-50 nm

Polokovové

 Kvantové tečky

Nekovové

 Hydroxyapatit
 20-200 nm

Uhlíkové

 Fulleren
 <100 nm


 Magnetizovatelné částice
 5 nm-3 μm


 Částice z oxidu křemičitého
 20-200 nm


 Trubky
 0,7 nm-50 μm

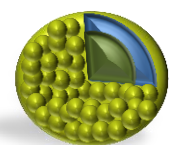
Lipidové


 Lipozom
 25-200 nm


 Micela
 20-60 nm

Polymerní


 Nanogel
 10-100 nm


 Polymerzom
 50 nm-5 μm

Proteinové

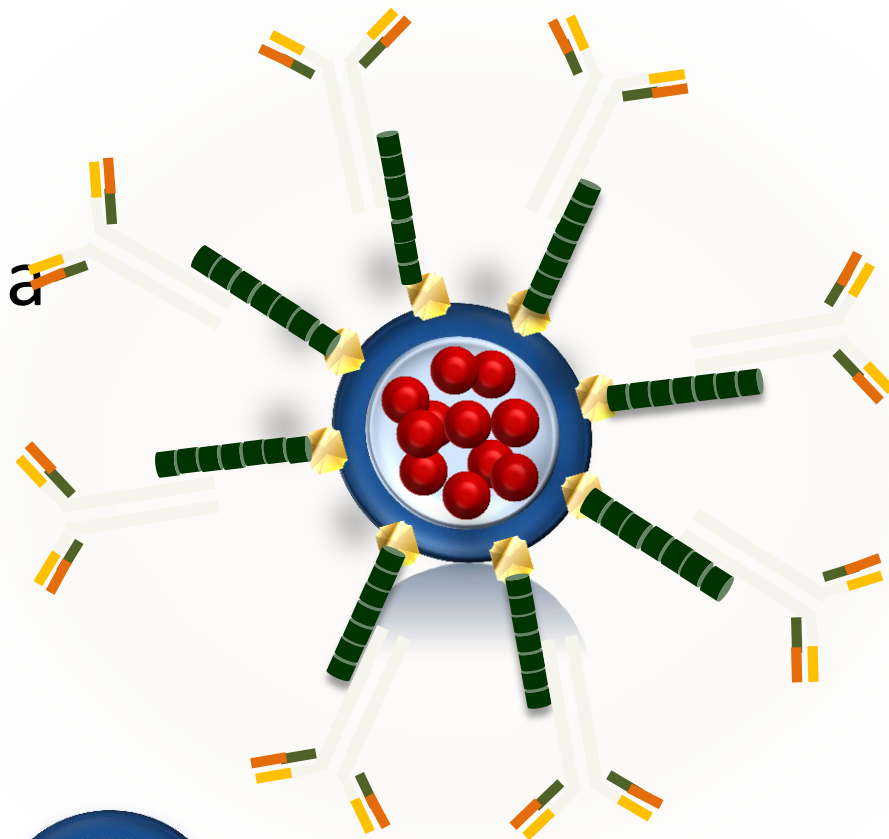
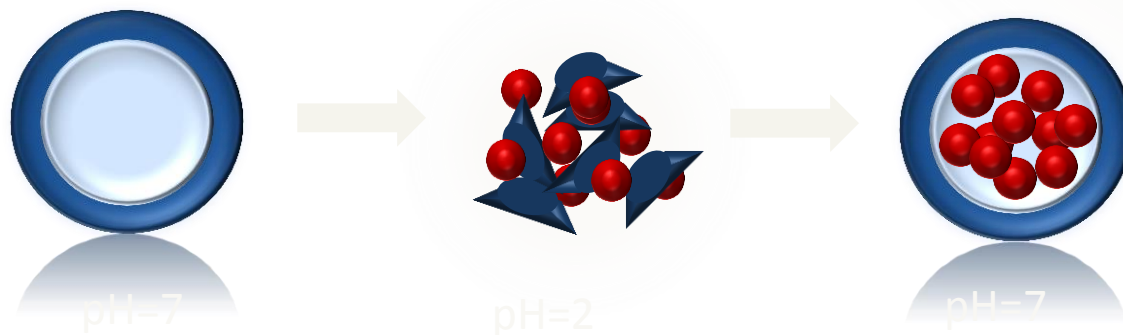

 Apoferitin
 12 nm

Virové


 Fágová kapsida
 <30 nm

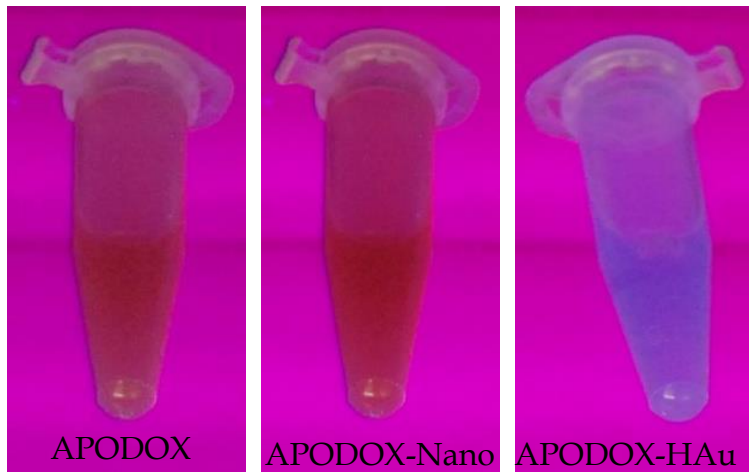
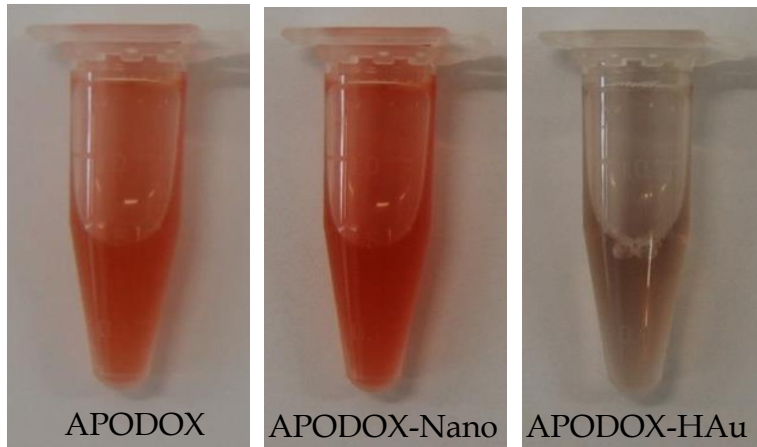
NÁVRH NANOTRANSPORTÉRU

- APODOX
- Zlaté nanočástice, kyselina tetrachlorozlatitá
- HWR peptid
- Cílicí protilátka (IgG)

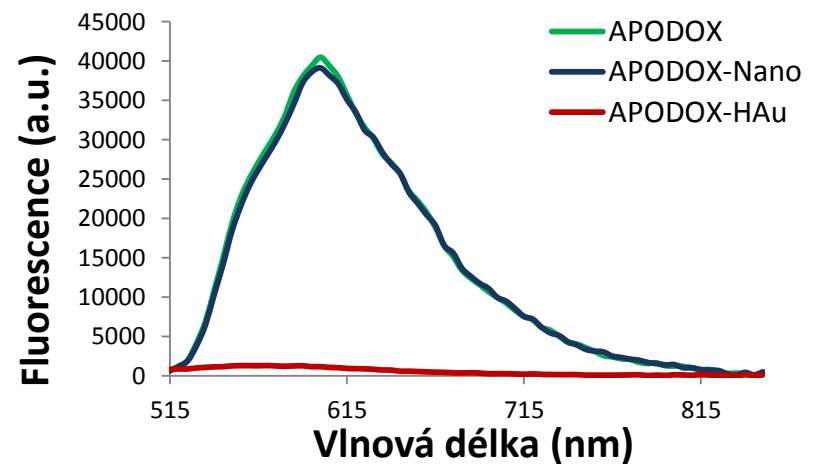
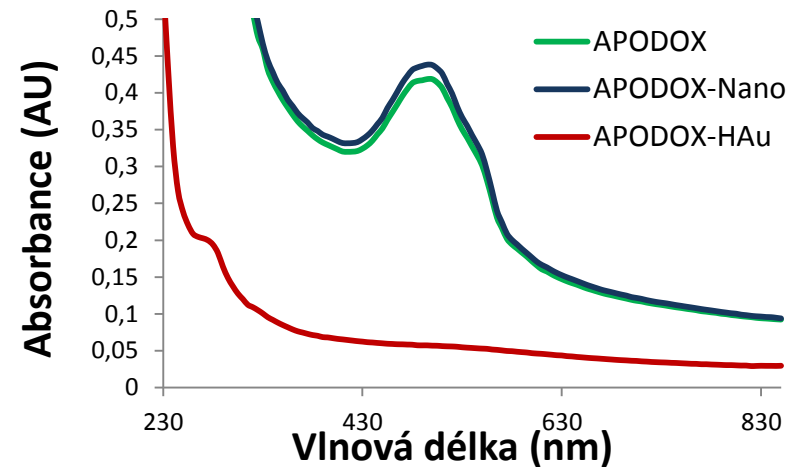


MODIFIKACE POVRCHU ZLATEM

Vizualizace v ambientním a UV světle



Absorbanční a fluorescenční měření



GELOVÁ ELEKTROFORÉZA

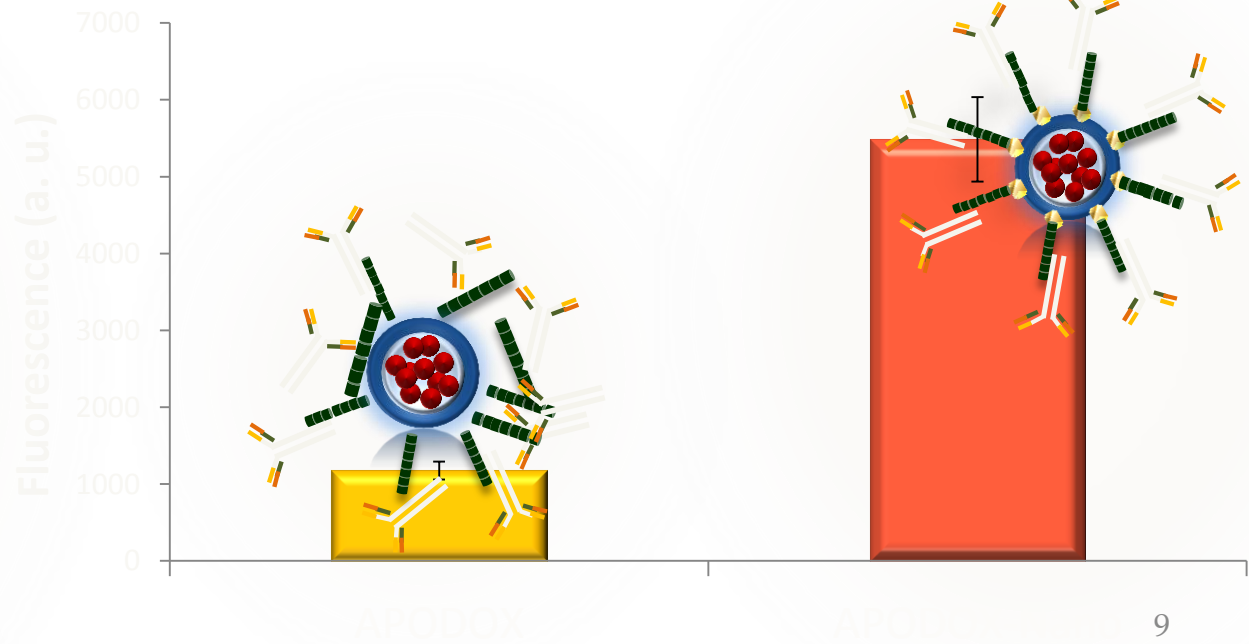
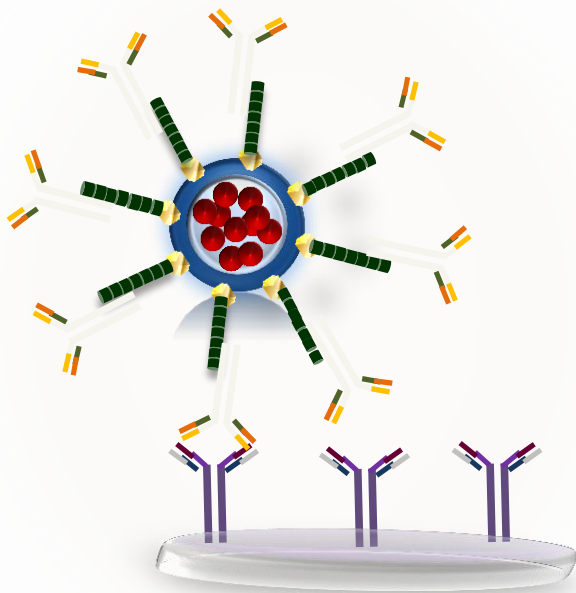
- Prokázání modifikace povrchu zlatem
- PAGE
- Analýza ICP-MS

	APODOX	APODOX-Nano	APODOX-HAu
Původně(μM)	0	25	200
Měření roztoku(μM)	0	12.75	130.9
Měření gelu (ng/g gelu)	0	1.98	12.42



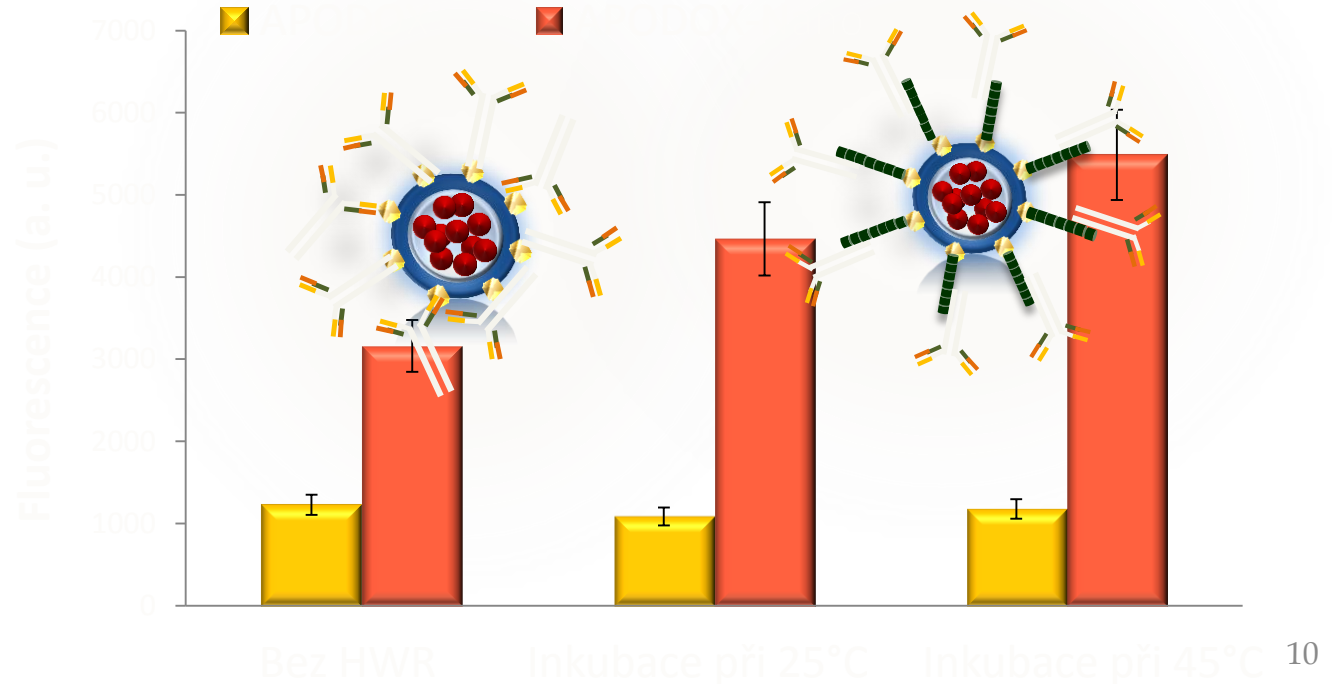
VLIV MODIFIKACE ZLATÝMI NANOČÁSTICEMI

- Sledování vlivu modifikace zlatými nanočásticemi na množství navázaného nanotransportéru
- Vyšší signál u APODOX-Nano
- Zlaté nanočástice podporují vazbu HWR peptidu



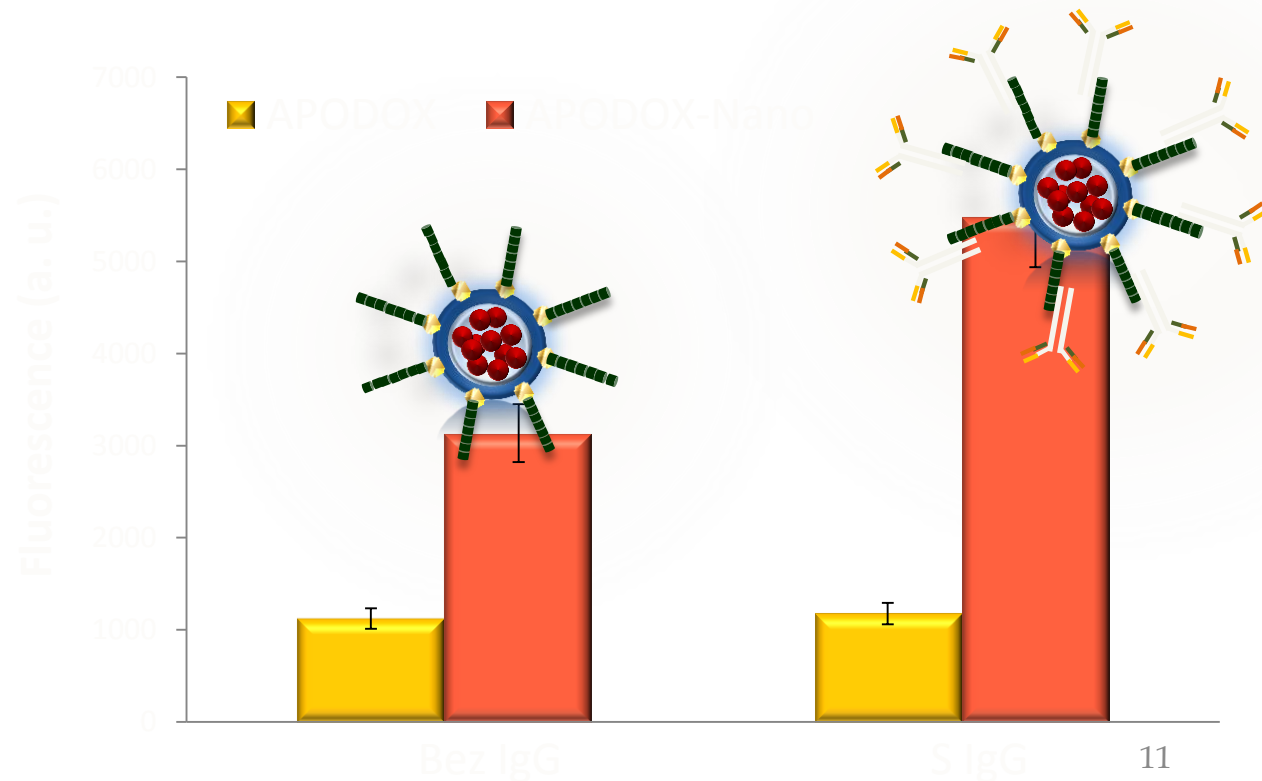
VLIV HWR PEPTIDU

- Sledování vlivu HWR peptidu na množství navázané protilátky
- Vazba HWR-protilátka přes Fc region
- HWR příznivě ovlivňuje geometrii komplexu



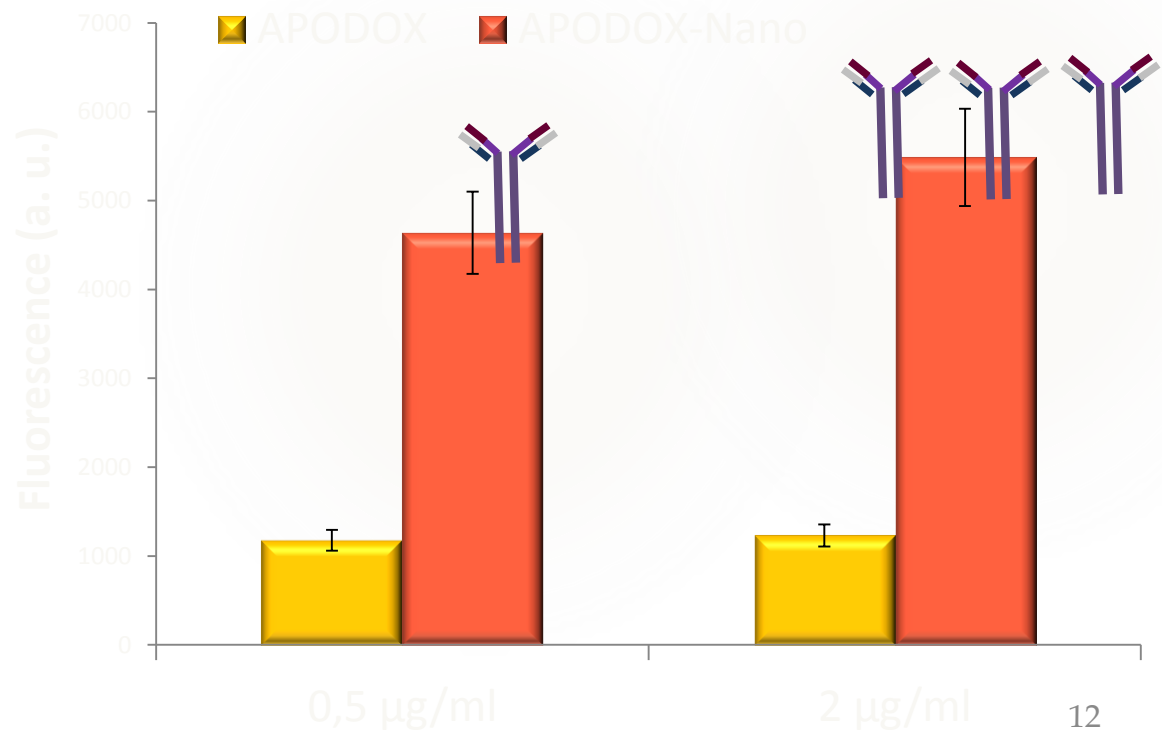
VLIV PŘÍTOMNOSTI PROTILÁTKY

- Sledování množství navázaného nanotransporéru v závislosti na přítomnosti IgG protilátky
- U APODOX-Nano navýšen signál => specificita



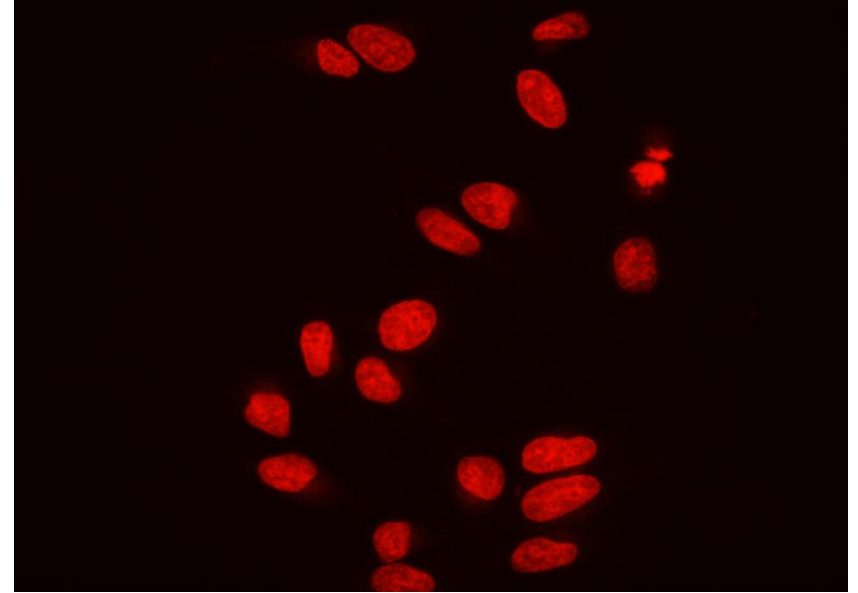
VLIV KONCENTRACE PROTILÁTKY (ANTIGENU)

- Koncentrace kozích anti-IgG na povrchu jamky:
 - 0,5 $\mu\text{g/ml}$ nebo 2 $\mu\text{g/ml}$
- Důkaz specificity APODOX-Nano

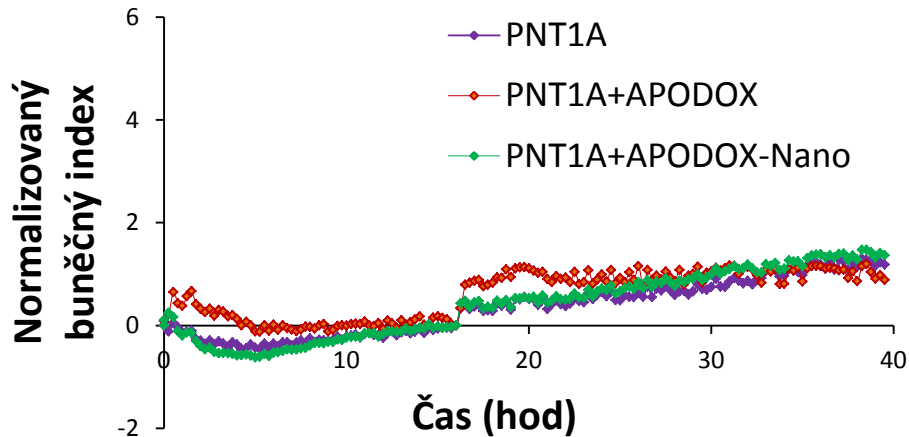


IN VIVO EXPERIMENT

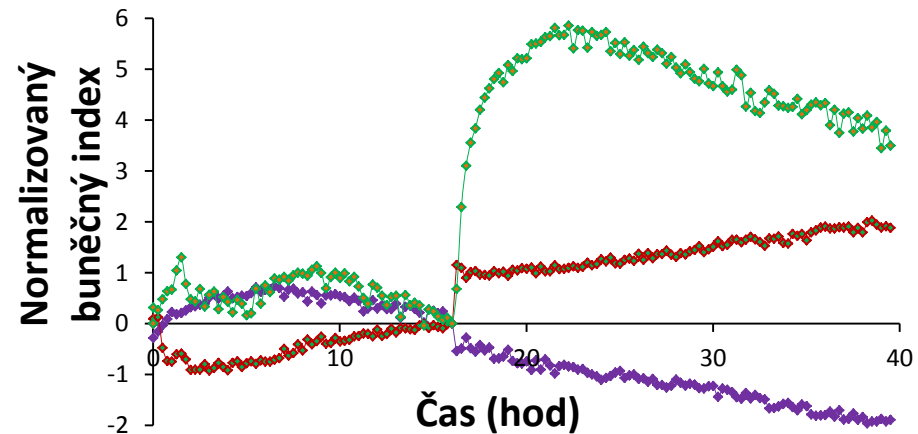
- Sledování vlivu nanotransportéru na viabilitu zdravých a rakovinných prostatických buněk



Zdravé buňky (PNT1A)



Nádorové buňky (LNCaP)



ZÁVĚR

- Vytvoření nanotransportéru
- Potvrzení navázání všech komponent
- Důkaz působení na rakovinné buňky
- Schopnost selektivně cílit nádorové buňky

PODĚKOVÁNÍ

prof. Ing. René Kizek, Ph.D.

Bc. Simona Dostálová

Mgr. Markéta Vaculovičová, Ph.D.

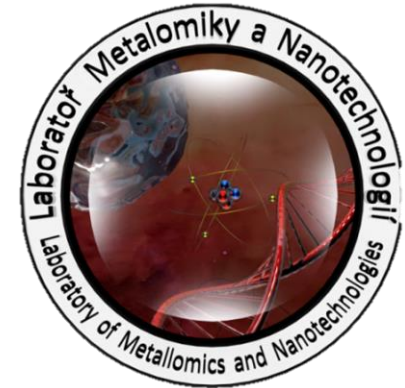
doc. RNDr. Pavel Kopel, Ph.D.

Mgr. Michal Kuňák, Ph.D.

Mgr. Tomáš Vaculovič, Ph.D.

Ing. Kristýna Číhalová

Ing. Iva Blažková



DĚKUJI ZA POZORNOST

Reg.č.projektu: CZ.1.07/2.4.00/31.0023

Název projektu: Partnerská síť centra excelentního bionanotechnologického výzkumu

