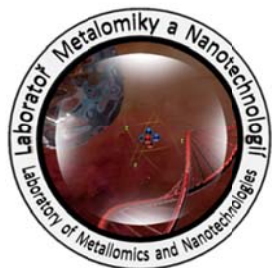


Laboratoř Metalomiky a Nanotechnologií



Enkapsulace doxorubicin do apoferitinového transportéru

Anotace

Doxorubicin, patřící do skupiny antracyklinových antibiotik je jedno z nejčastěji používaných chemoterapeutik v léčbě nádorových onemocnění [1]. I přes vysokou efektivitu doxorubicinu je jeho použití limitováno negativními účinky na zdraví pacienta, a to hlavně na jeho srdeční svalovinu. Nadměrné použití doxorubicinu je provázeno kardiomyopatií, arytmii, vedoucí až k městnavému srdečnímu selhání [2]. Z důvodu dávka-dependentní kardiotoxicity jsou neustále vyvíjeny nosiče, které tuto nežádoucí vlastnost mohou eliminovat. Nejčastěji a nyní již komerčně používané liposomy či pegylované liposomy mohou zvýšit stabilitu léčiva a ochránit ho před nežádoucími interakcemi s biomolekulami v tkáni. Z hlediska biodostupnosti a biodegradability se v dnešní době věnuje pozornost nosičům, které jsou tělu přirozené, jako například proteiny. Jedním z nich může být apoferitin, který svými vlastnostmi splňuje požadavky nanotransportéru s velmi dobrými nanotoxikologickými vlastnostmi. Apoferitin může být pod vlivem nízkého pH disasociován na 24 podjednotek a zvýšením pH zase složen do původní konformace [3]. Toho lze využít při enkapsulaci léčiv. Apoferitin lze navíc modifikovat, a tím významně zvýšit jeho selektivitu.

Použitý materiál

- voda, ACS
- apoferitin – koňská slezina, Sigma-Aldrich
- Doxorubicin, Sigma-Aldrich
- kyselina chlorovodíková
- hydroxid sodný

Pracovní postup

PŘÍPRAVA KOMPONENT



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

CZ.1.07/2.3.00/20.0148 NANOLABSYS

Mezinárodní spolupráce v oblasti „*in vivo*“ zobrazovacích technik

http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/nanolabsys/

20 μL apoferritinu bude rozpuštěno ve 200 μL ACS vody.

Doxorubicin (100 μL) bude připraven v koncentraci 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ v ACS vodě



PŘÍPRAVA APODOX KOMPLEXU

Komponenty budou smíchány dohromady a bude přidán 0.5 μL kyseliny chlorovodíkové (1 M). Bude pozorován zákal. Za 15 minut bude přidán 0.5 μL hydroxidu sodného (1M) a bude pozorována redukce zákalu.

Směs bude míchána 2 hodiny na vortexu (Vortex Genie2, Scientific Industries Inc, Bohemia, NY, USA) a poté bude provedena dialýza (24 h) na membránovém filtru (0.025 μm , VSWP, Millipore) při celkovém objemu vody 2 L. Takto získaný roztok bude doředěn ACS vodou do celkového objemu 1 mL.

FLUORESCENCE APODOX KOMPLEXU

Fluorescenční mikroskopie

Pro pozorování fluorescenčních vlastností APODOX komplexu bude použit fluorescenční invertovaný mikroskop Olympus ix 71 (Olympus Czech group Ltd., Prague, Czech Republic), využívající excitaci 480 nm a emisi 580 nm. Zvětšení bude použito 200 x a expoziční čas 121 sekund.

Fluorimetrická analýza

Fluorescenční spektra budou získána pomocí přístroje Tecan Infinite 200 PRO (TECAN group Ltd., Mannedorf, Switzerland). Jako excitační vlnová délka bude použito 480 nm a emise bude snímána v rozmezí 510 – 850 nm každých 5 nm. Pro měření bude použito 50 μL vzorku, napipetovaných do destičky s 96 jamkami.

Kapilární elektroforéza s laserem indukovanou fluorescencí

Elektroforetické měření bude prováděno pomocí kapilární elektroforézy Beckman PACE/5000 s laserem indukovanou fluorescencí pomocí excitace při 488 nm. Pro měření byla použita křemíková kapilára s celkovou délkou 47 cm a efektivní délkou 40 cm. Vnitřní průměr kapiláry byl 75 μm . Jako elektrolyt bude použit Tris-HCl pufr (50 mM, pH 8.2) a separace byla provedena při 20 kV s hydrodynamickou injekcí po 20 sekundách při 3.4 kPa.

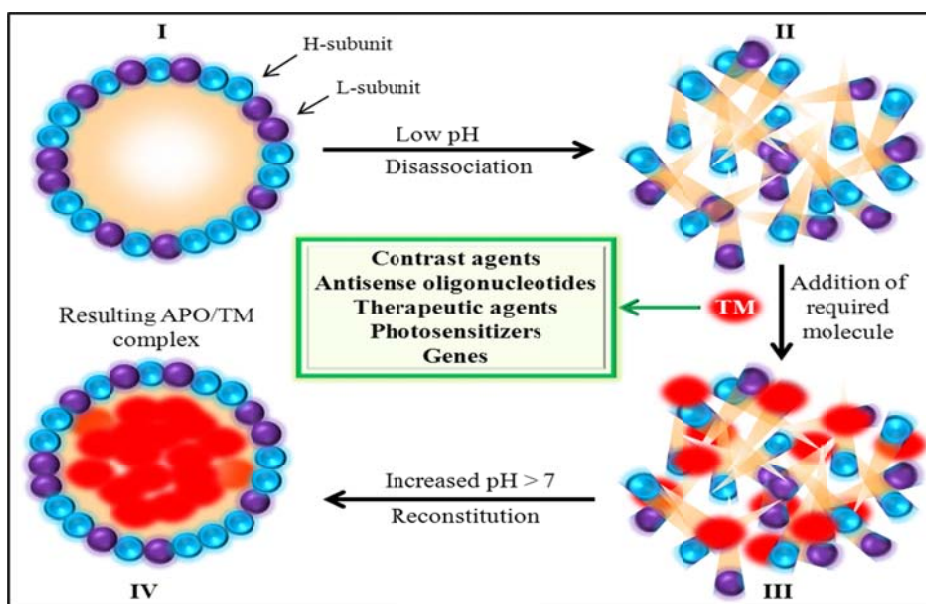


INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ

Obrázek 1: Invertovaný fluorescenční mikroskop



Obrázek 2: Schéma disociace a rekonstituce apoferritinu



Doporučená literatura

1. Heger, Z., et al., *A Novel Insight into the Cardiotoxicity of Antineoplastic Drug Doxorubicin*. International Journal of Molecular Sciences, 2013. **14**(11): p. 21629-21646.

CZ.1.07/2.3.00/20.0148 NANOLABSYS

Mezinárodní spolupráce v oblasti „in vivo“ zobrazovacích technik

http://web2.mendelu.cz/af_239_nanotech/nanolabsys/



2. Aryal, B., J. Jeong, and V.A. Rao, *Doxorubicin-induced carbonylation and degradation of cardiac myosin binding protein C promote cardiotoxicity*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014. **111**(5): p. 2011-2016.
3. Blazkova, I., et al., *Apo ferritin Modified Magnetic Particles as Doxorubicin Carriers for Anticancer Drug Delivery*. International Journal of Molecular Sciences, 2013. **14**(7): p. 13391-13402.



evropský
sociální
fond v ČR



EVROPSKÁ UNIE



MINISTERSTVO ŠKOLSTVÍ,
MLÁDEŽE A TĚLOVÝCHOVY



OP Vzdělávání
pro konkurenceschopnost

INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ