



# Egy molekulakönyvtár szűrésére alkalmas ADCC modell létrehozása

Guti Eliza<sup>1</sup>, Hegedűs Csaba<sup>1</sup>, Kiss Alexandra<sup>1</sup>, Regdon Zsolt<sup>1</sup>, Polgár Zsuzsanna<sup>1</sup> és Virág László<sup>1</sup>

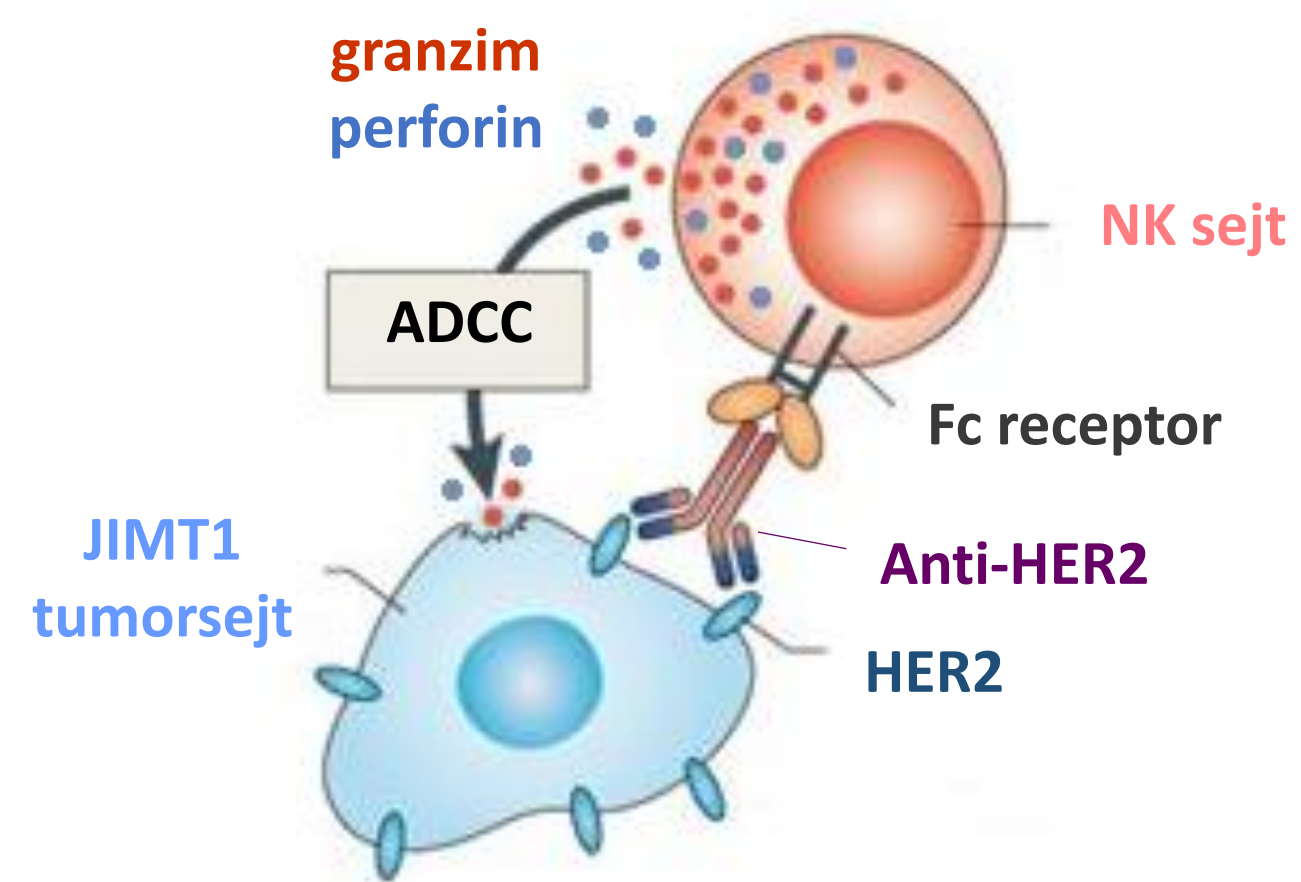
<sup>1</sup>Debreceni Egyetem, Általános Orvostudományi Kar, Orvosi Vegytani Intézet, Debrecen, Magyarország

## Bevezetés

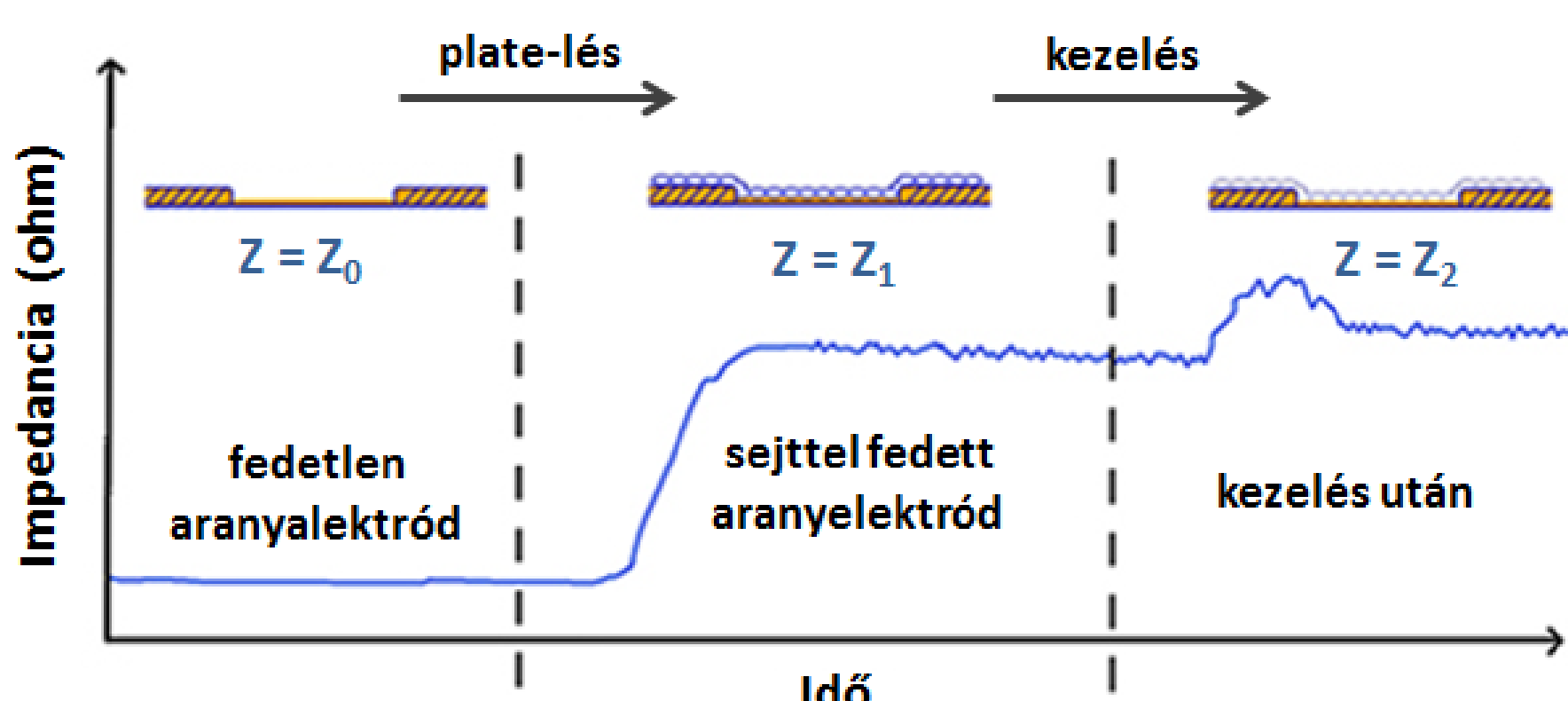
A több millió molekulából álló könyvtárak szűrésének egyre népszerűbb alternatívája az ún. „drug repurposing”, melynek során már ismert, és engedélyezett gyógyszerhatóanyagok újszerű hatásait azonosítják egy jól beállított biológiai rendszerben. Egy molekulakönyvtár szűrésének első mozzanata a megfelelő esszé kiválasztása és a kísérletes körülmények beállítása egy vagy néhány vegyszer használatával. Amennyiben az optimalizálás sikeres, kezdetét veheti a szűrés, ahol nem alkalmazandó sem párhuzamos, sem koncentrációsor, ezek a megerősítő vizsgálatok során vezetendők be, ezzel finomítva a kísérletes körülményeket. Ha a megerősítő vizsgálatok során az adott „hit-hez” tartozó, szűrővel kapott eredmény ismét tapasztalható, abban az esetben elfogadható az a találat és további elemző vizsgálatok végezhetőek.

Kísérletes munkám során célul tűztem ki egy molekulakönyvtár szűrésére alkalmas ADCC rendszer kidolgozását és tesztelését ismert gyógyszerhatóanyagokat tartalmazó molekulakönyvtár szűrésével.

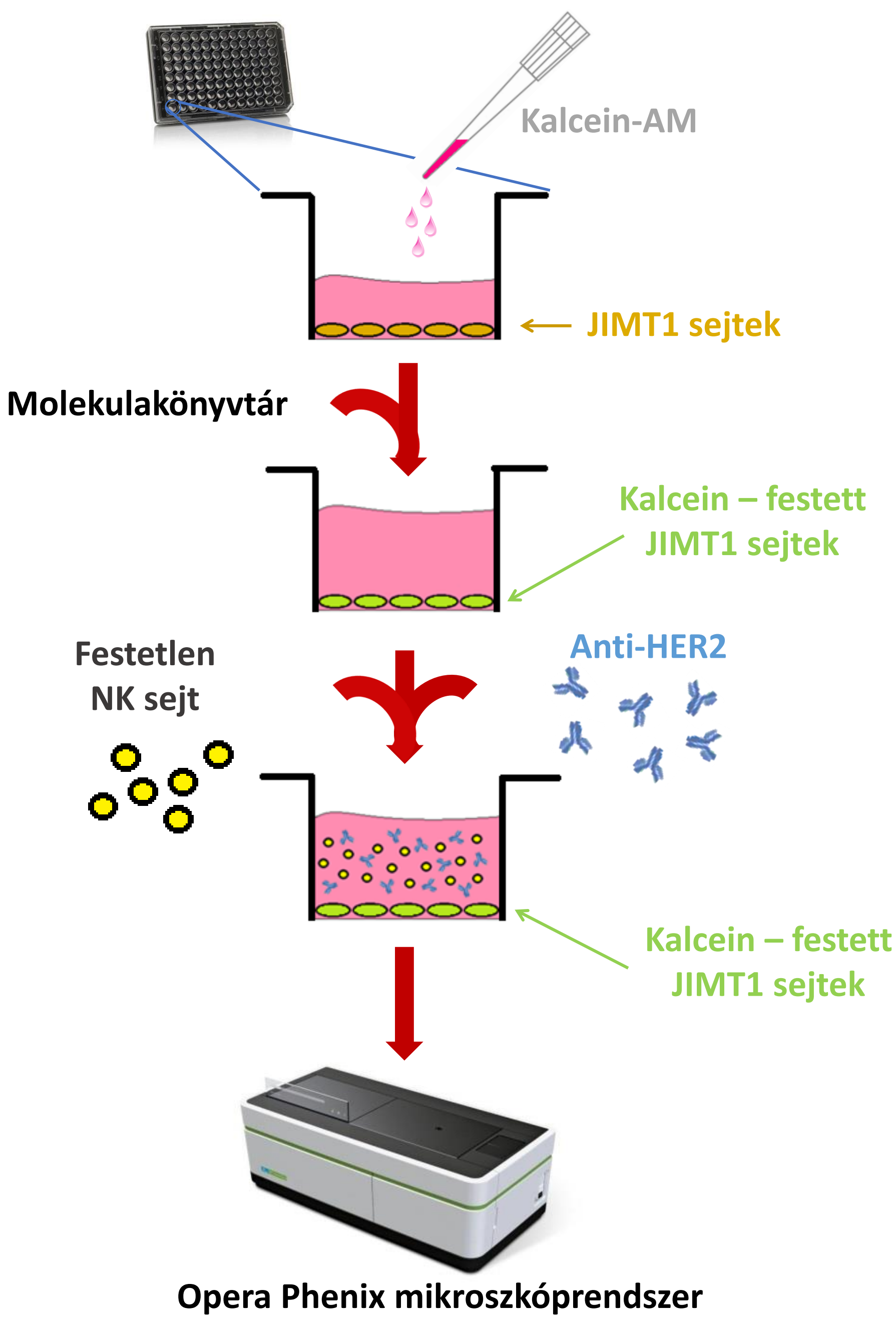
## Módszerek



1. Ábra Az ADCC (antitest-dependens celluláris citotoxicitás)

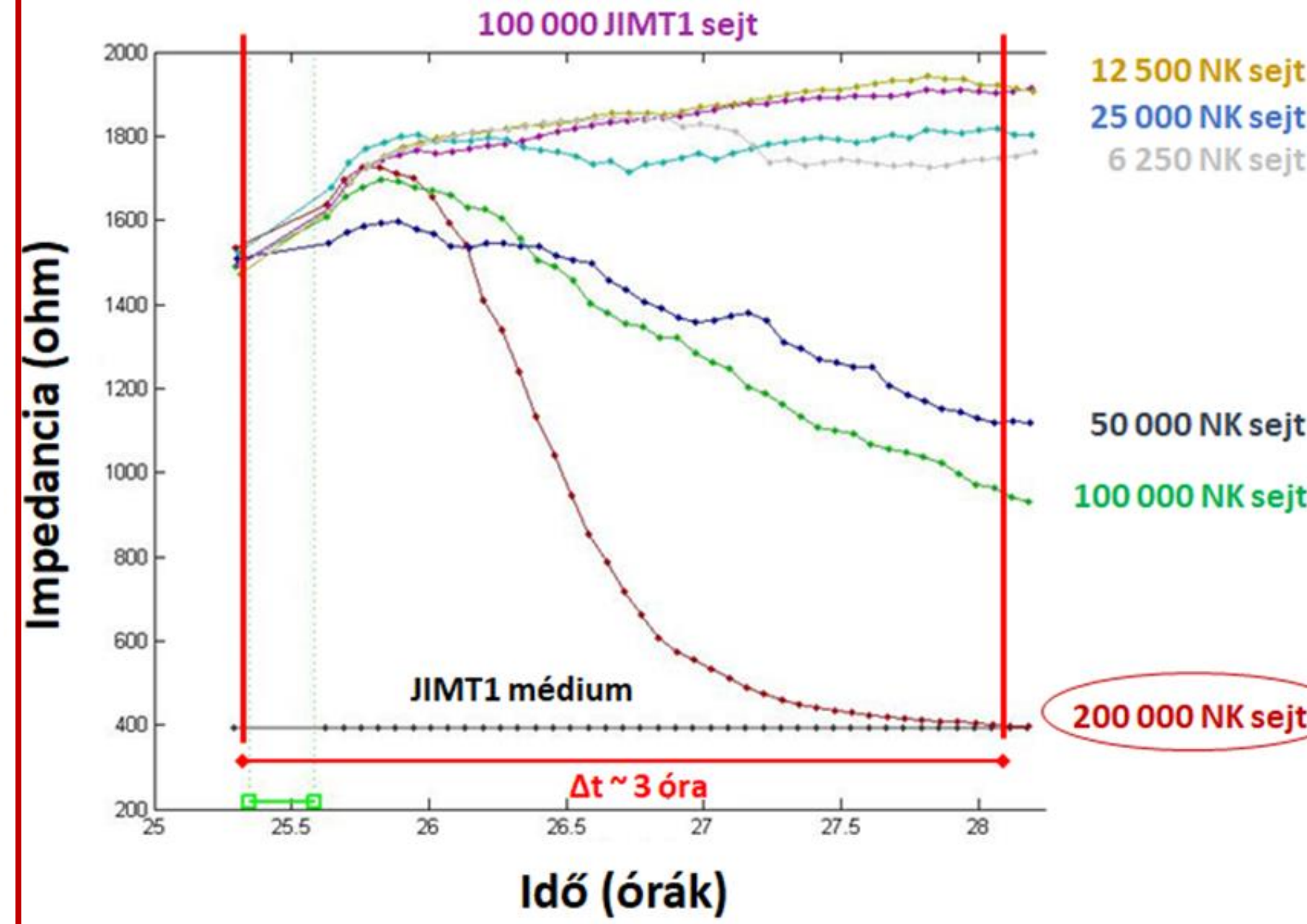


2. Ábra Az impedancia-alapú mérés

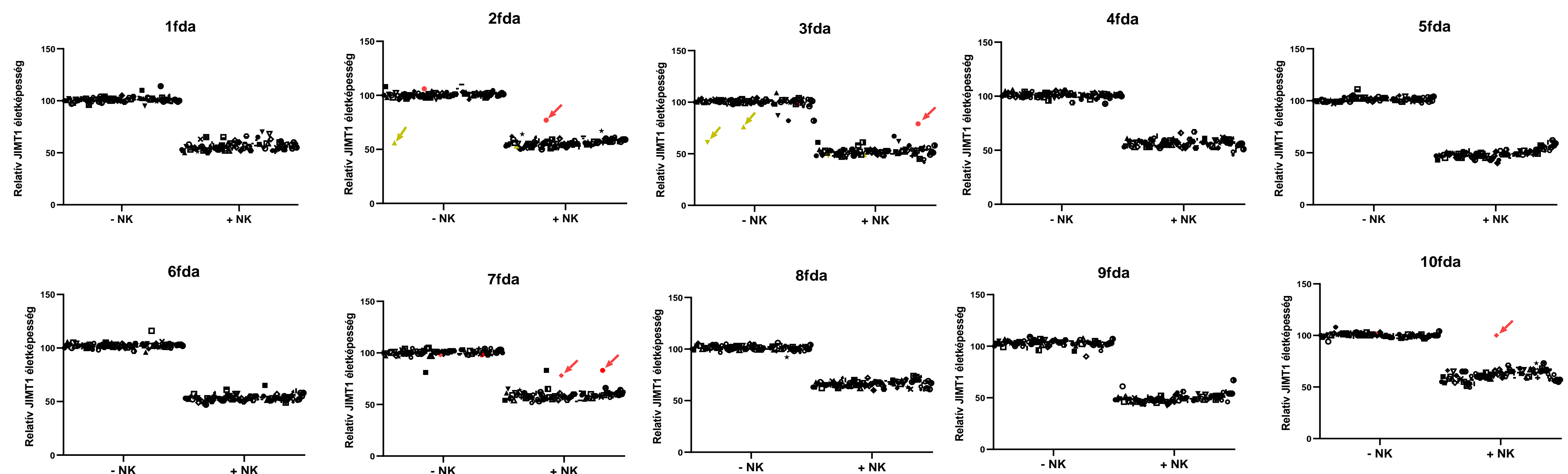
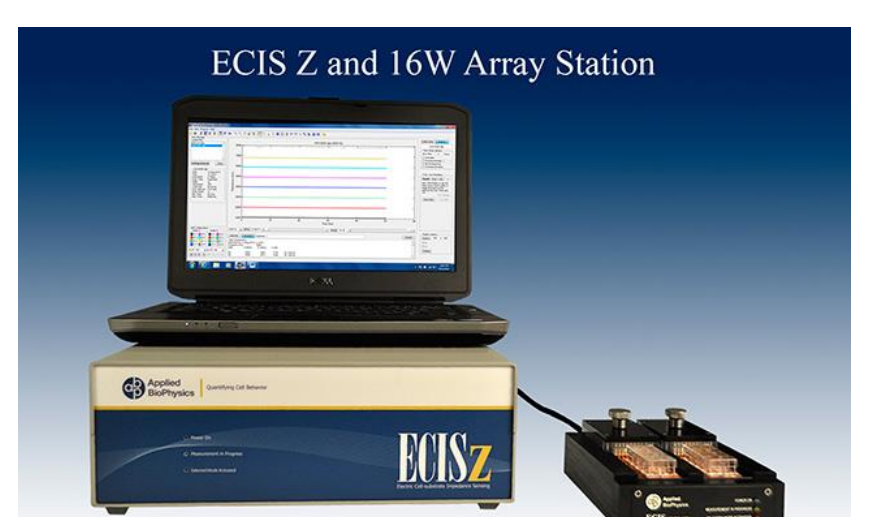
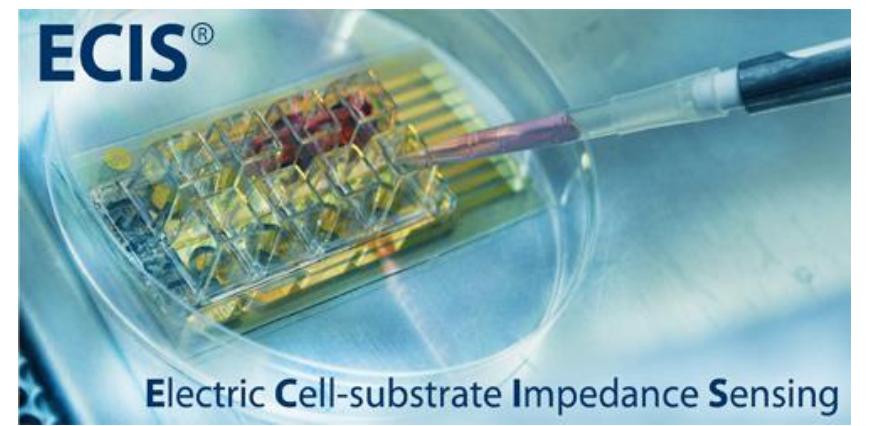


3. Ábra A Calcein festésen alapuló szűrési protokoll a) ADCC kezdetén és b) végén készült felvétel

## Eredmények



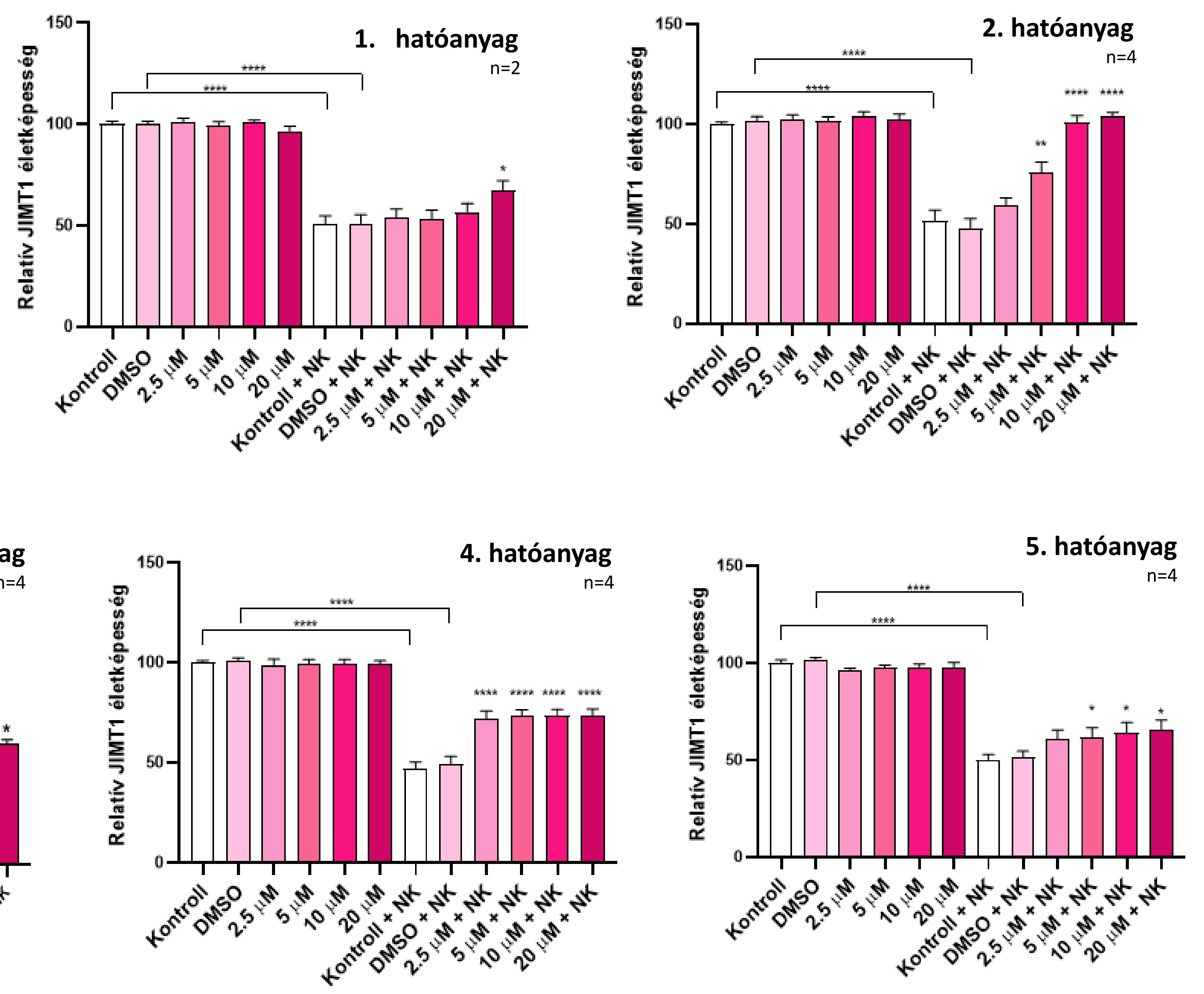
4. Ábra Az impedancia mérésen alapuló ECIS (Electric cell-substrate impedance sensing) készülék lehetőségeit adott a ko-kultúrát alkotó effektor és target sejtek elkülönítésére a festési lépés elhagyásával. Az ECIS plate alját aranyelektrodok borítják, amelyekből az érzékelő impedancia értékek egyenes arányosságot mutatnak a konfluencia mértékével, azaz amikor az impedancia csökken, a JIMT1 sejtek általi lefedettség az aranyelektrodok felszínén is csökken. Az effektor target sejt arány (E : T) meghatározásához különböző számú NK sejtrel történt a JIMT1 target sejtek inkubálása, ahol a 2 : 1 volt az E : T arány, mely a JIMT1 sejtek számát rövid idő (~ 3 óra) alatt jelentősen lecsökkentette.



5. Ábra A két sejtípus egymástól való elkülönítésére a kalcein-AM festés volt alkalmazva. A sejtpermeabilis, nem-fluoreszcens kalcein-AM, acetoximetil (AM) csoportját az intracelluláris észterázok hasítják. Ennek eredménye, hogy a kalcein csapdába esik a sejtben és gerjesztés hatására zölden fluoreszkál, így ez a festési eljárás kiváló az effektor NK és a target JIMT1 sejtek elkülönítésére. Az ADCC rendszer molekulakönyvtárral történő kezelése a TECAN Freedom pipettázó robottal történt, míg a festett célsejtek számbeli változása Opera Phenix High-Content Screening rendszerrel valósult meg (n=1).



6. Ábra A TECAN Freedom pipettázó robot



6. Ábra A megerősítő vizsgálatoknál a szűrési protokoll volt alkalmazva, annyi különbséggel, hogy koncentrációsor és párhuzamosok is be lettek vezetve, ezzel finomítva a kísérletes körülményeket.

## Konklúzió

Eredményeim alapján kijelenthetem, hogy a 2:1 az az E:T arány, mely a JIMT1 sejtek számát rövid időn belül jelentősen lecsökkenti. A target sejtek kalceinnel történő jelölése kiválóan alkalmas az effektor sejtektől való elkülönítésére, ezáltal egy képlemező szoftverrel való kiértékelésre. A beállított kísérletes rendszerben kizárólag ADCC hatékonyságot csökkentő hatóanyagokat sikerült azonosítani, mely gyakorlati jelentőséggel is bír. A kezelőorvosok számára fontos információ, hogy amennyiben egy betegüket NK sejtet gátló hatóanyagot tartalmazó gyógyszerkészítménnyel kezelnek, számolni kell az NK sejtek gátolt működésével.