

Utveckling och karakterisering av antikroppar för mikromatris-baserade applikationer

Vetenskapen har gjort att vi kan idag känna igen ett sjukdomstillstånd, eller följa ett sjukdomsförlopp genom att titta på dess biologiska fingeravtryck. För att man ska kunna upptäcka och tolka ett sådant fingeravtryck behöver man ett högteknologiskt redskap; *microarray*.

Ett biologiskt fingeravtryck utgörs av en uppsättning ämnen, eller biomarkörer, som i olika kombinationer och koncentrationer blir specifika för ett hälsotillstånd. Detta kan tala om för läkare att en patient lider av exempelvis en infektion eller en sjukdom. Med teknologins hjälp vill man fånga upp biomarkörerna en och en från ett prov, och kunna säga att "dessa biomarkörer finns, och så här många är de". En biomarkör kan också kallas antigen, och det kan kännas igen av en antikropp. Genom genteknik kan man utveckla antikroppar till att känna igen specifika antigen.

Med en teknik som kallas protein-*microarray* har man kunnat utnyttja antikropparnas igenkänningsförmåga. Antikropparna fästs på en yta och man applicerar ett prov från en patient. Ifall antikropparna finner sina antigen fångas dessa in och bildar ett komplex. Om antigenen är markerade med fluorescerande ämnen kan man se vilka antigen och antikroppar som funnit varandra, och man får ett slags fingeravtryck. Ett problem med *microarray* är att antikropparna kan hamna lite hur som helst på ytan där man fäster dem. Detta betyder att de kanske inte alls har möjlighet att fånga upp sina antigen, eller på annat sätt fungerar sämre. Om man kunde finna ett sätt att immobilisera antikropparna i rätt position varje gång skulle detta innebära att *microarray*-tekniken blev både känsligare och pålitligare.

Det här projektet byggde på en studie där man lyckats förändra antikroppar till att bära den konstgjorda aminosyran *p*-benzoyl-L-phenylalanine (*p*Bpa). *p*Bpa har förmågan att skapa kemiska bindningar

med andra ämnen om man lyser på den med en viss sorts ljus. Man lyckades koppla en del av antikroppen till en donutliknande kolhydrat som heter β -cyclodextrin (β -CD), där β -CD fungerade som ett slags ankare. Detta kunde hålla antikroppen i rätt position på ytan, och frilägga den antigenkopplande delen. Tekniken kallas dock 'n' flash.

Syftet med detta projekt var att undersöka möjligheten att föra in *p*Bpa i många fler antikroppar, och se hur väl de fungerade i *microarray* efter dock 'n' flash. DNA som kodar för antikropparna muterades i labbet. DNA:t fördes sedan in i *E. coli*-bakterier som skulle producera antikropparna med *p*Bpa. Mutationen var möjlig att genomföra. Att föra in det nya DNA:t i bakterierna var desto svårare. Under arbetets gång gjordes många försök att övertyga de motsträviga bakterierna, som i slutändan ändå övervanns, och som en bonus tillkom många nya erfarenheter. Slutligen gjordes en prov-produktion av de muterade antikropparna, som tyvärr inte gav mycket resultat.

Trots de motgångar som projektet fick genomgå har det bidragit med en del viktiga lärdomar. Förhoppningsvis leder detta i sinom tid till högrepresterande antikroppar som i dock 'n' flash och *microarray* kan underlätta att finna biomarkörer. Detta kan därmed hjälpa läkare i sitt arbete för patienterna.

Cecilia Warfvinge

Molekylär bioteknik, Lunds Tekniska Högskola

Snabblexikon

Antikropp = protein som känner igen och binder antigen

Antigen = ämne som känns igen av antikroppar

Fluorescerande = återutsänder ljus

Microarray = analysteknik som kan upptäcka många antikropp-antigenkomplex samtidigt

Aminosyra = proteinbyggsten