

Sintesis, karakterisasi dan studi in silico radioimunokonjugat ¹⁷⁷Lu-dota-f ab 2 trastuzumab sebagai agen teranostik kanker payudara = Synthesis characterization and in silico study of radioimmunoconjugate ¹⁷⁷Lu dota f ab 2 trastuzumab as theranostic agent of breast cancer

Sandra Hermanto, author

Deskripsi Lengkap: <https://lib.ui.ac.id/detail?id=20446686&lokasi=lokal>

Abstrak

Penggunaan radioimunokonjugat berbasis antibodi trastuzumab sebagai agen teranostik kanker payudara positif HER2 masih kurang ideal karena ukuran molekul yang relatif besar sehingga laju biodistribusi dan laju clearance relatif lambat dan mengakibatkan akumulasi dalam jaringan normal hati/ginjal dan darah. Berdasarkan fakta ini, fragmentasi trastuzumab menjadi F ab 39; 2 dan penandaan fragmen oleh radionuklida Lutetium-177 pemancar partikel β^- dan γ telah dilakukan. Penyiapan fragmen F ab γ ; 2 dilakukan melalui fragmentasi enzimatik oleh pepsin dan fraksinasi dengan kolom PD-10 Sephadex G-25 ., Fragmen F ab γ ; 2 yang dihasilkan dikonjugasi dengan 2- 4-isothiocyanatobenzene -1,4,7,10-tetraazacyclododecane-1,4,7,10-tetraacetic acid p-SCN-Bn-DOTA dan radiolabeling dengan ¹⁷⁷Lu. Fluktualitas dan afinitas F ab γ ; 2 dalam pengikatannya dengan reseptor HER2 diamati melalui pendekatan simulasi dinamika molekuler dan penambatan molekul molecular docking . Hasil fragmentasi menunjukkan semua trastuzumab terkonversi menjadi Fragmen F ab 39; 2 dengan waktu hidrolisis optimum 18 jam. Purifikasi fragmen F ab 39; 2 dengan kolom kromatografi gel filtrasi menghasilkan 98 F ab γ ; 2 murni dengan bobot molekul F ab 39; 2 98,35 kDa. Jumlah rasio mol pSCN-Bn-DOTA per fragmen antibodi 5.03 1.5 dengan perbandingan mol DOTA:F ab γ ; 2 20:1. Stabilitas termodinamik radioimunokonjugat ¹⁷⁷Lu-DOTA-F ab γ ; 2 trastuzumab cukup tinggi dalam serum HSA pada suhu 37°C setelah masa penyimpanan selama 4 hari dengan kemurnian radiokimia yang masih dapat dipertahankan sebesar 91.96 0.26. Hasil simulasi dinamika molekuler menunjukkan bahwa fragmentasi Fc pada molekul trastuzumab relatif tidak merusak struktur dan konformasi F ab γ ; 2 secara keseluruhan khususnya pada daerah CDR sehingga tidak menurunkan afinitas pengikatannya terhadap reseptor HER2. Hasil analisis SASA pada residu lisin F ab γ ; 2 menunjukkan bahwa reaksi pembentukan konjugat DOTA-F ab γ ; 2 diduga terjadi di luar daerah CDR sehingga tidak mengganggu afinitas pengikatannya terhadap reseptor HER2. Simulasi Lu-DOTA-Fab-HER2 dalam fase air menghasilkan ΔG binding yang relatif lebih besar 15.5066 kkal/mol jika dibandingkan dengan kompleks HER2-Fab -45.1446 kkal/mol.The use of trastuzumab as intact IgG labeling radionuclide for HER2 breast cancer theranostic agent is not ideal because it is slowly eliminated from the blood and normal tissues yielding low tumor blood T B and tumor normal tissue T NT ratios. Based on this fact, fragmentation of trastuzumab F ab 2 and radiolabeled of fragment by and particle of Lutetium 177 has been developed. Preparation of F ab 2 trastuzumab fragment were prepared by digestion of intact IgG with pepsin and fractionated in PD 10 column, through conjugated with 2 4 isothiocyanatobenzyl 1,4,7,10 tetraazacyclododecane 1,4,7,10 tetraacetic acid p SCN Bn DOTA and radiolabeled with ¹⁷⁷Lu. The results of this preliminary work were the optimum time for completely digest of trastuzumab to form F ab 2 fragment was 18 hrs, where all trastuzumab converted to F ab 2 fragment. The purity of F ab 2 fragment from size exclusion chromatography was carried out of 98 and a molecular weight of F ab 2 was 98.35 kDa respectively. The

average number of pSCN Bn DOTA chelates per antibody fragmen were 5.03 1.5 and the optimum conjugation reactions were performed at molar ratio 20 1 for pSCN Bn DOTA to trastuzumab. The stability test of radioimmunoconjugate in HSA serum in 37°C show the high stability of aliquot with radiochemical purity was 91.96 0.26 after 96h storage. Molecular dynamic simulation of F ab 2 fragment show that fragmentation of trastuzumab did not distrust the whole structure and conformation of F ab 2 expecially in CDR region. The solvent accesibility surface area of lysine residue show that conjugation of pSCN Bn DOTA to F ab 2 occurred in lys residue outside of CDR region so it s not influenced the binding affinity of radioimmunoconjugate. The docking of Lu DOTA F ab 2 with HER2 receptor in aquous system generated Gbinding more highly 15.5066 kkal mol than positive control HER2 Fab 45.1446 kkal mol.