

nodigt U graag uit op de openbare verdediging van het proefschrift van

## **Maxine Crauwels**

ter behaling van de graad van Doctor in de Bio-ingenieurswetenschappen

Titel van het proefschrift:

**Effect van verschillende karakteristieken van radiometaal gemerkte  
Nanobodies op de nierretentie**

Promotors:

**Em. prof. dr. Serge Muyldermans**  
**Prof. dr. ir. Jo Van Ginderachter**  
**Prof. dr. Catarina Xavier**  
**Prof. dr. Nick Devoogdt**

De verdediging heeft plaats op

**Maandag 26 oktober 2020 om 15u00**

De verdediging kan via een livestream gevolgd worden. Contacteer [maxine.crauwels@vub.be](mailto:maxine.crauwels@vub.be) voor meer informatie

### **Samenstelling van de jury**

Prof. dr. Steven Ballet (VUB, voorzitter)  
Prof. dr. Henri De Greve (VUB, secretaris)  
Prof. dr. ir. Tamara Vanhaecke (VUB)  
Prof. dr. Sabrina Santos Oliveira (Utrecht University)  
Prof. dr. Marion Hendriks-de Jong (Erasmus MC, NL)

### **Curriculum vitae**

Maxine Crauwels (1992) behaalde haar bachelor en master in Bio-Ingenieurswetenschappen aan de Vrije Universiteit Brussel. Ze begon haar doctoraat na het verkrijgen van een FWO-project met als doel de nierretentie van radionuclide gemerkte Nanobodies te onderzoeken. Meerdere methoden werden ontwikkeld om ladingsdensiteit, pI, en protein A binding site van Nanobodies te wijzigen. Dit leidde tot een strategie om Nanobodies te zuiveren in afwezigheid van affiniteits-tags aan hun C-uiteinde.

### **Abstract van het doctoraatsonderzoek**

Nanobodies (Nbs) zijn de kleinste intacte antigeen-bindende fragmenten, afkomstig van zware-keten antilichamen, dewelke natuurlijk voorkomen in Camelidae. Hun uitstekende karakteristieken, zoals hun kleine grootte (MW < 15.000), hoge stabiliteit, hoge antigeen-specificiteit en lage immunogeniciteit, maken van Nbs ideale doelgerichte middelen. Gekoppeld aan een radio-actief isotoop, kunnen ze gebruikt worden in nucleaire geneeskunde, voor diagnose en/of therapie. De overmaat aan radio-actief gemerkte Nbs worden uit bloed circulatie gefilterd door de nieren. Deze eliminatie route kan echter tot nierfalen leiden. Daarom onderzochten we de karakteristieken van Nbs met de bedoeling om de nier retentie te verlagen. Vroegere waarnemingen lieten uitschijnen dat verschillende Nbs, geladen met eenzelfde radionuclide, toch een verschillende retentie in nieren vertoonden. Vandaar dat we in een *in silico* studie verschillende Nb karakteristieken onderzochten op hun effect op de nier retentie. Hierbij werd een trend opgemerkt tussen ladingen en de nier retentie. Om deze bevinding te bevestigen werden extra geladen aminozuren toegevoegd aan het C-terminale einde van een Nb, waarbij een verhoging van de nier retentie opgemerkt werd wanneer zowel positief als negatief geladen aminozuren aanwezig waren. Bovendien werd ook het effect van de algemene lading, of pI van Nbs op de nier retentie onderzocht, maar geen significant verschil werd waargenomen. We hadden eveneens aandacht voor de mogelijke effecten van aminozuur sekwenties in het raamwerk van VHHs gelegen op de solvent toegankelijke zijden van de  $\beta$ -sheets van de immunoglobuline opbouw, d.i. de staphylococcus Protein A (SpA) bindingsite en de VHH sleutel-posities van het 'framework region-2'. Alhoewel er geen duidelijke Nb geraamte sequentie verantwoordelijk bleek te zijn voor de nier retentie, werd er door plaats gerichte mutagenese van Nbs een bruikbare affiniteitschromatografie methode ontwikkeld om Nbs te zuiveren zonder C-terminale zuiverings-tags (bv. C-tag of His tag), door het inbrengen van een SpA bindingsite in de Nbs. De aanwezigheid of afwezigheid van deze SpA bindingsite beïnvloedde de nier retentie van de gemerkte Nbs niet.