

## 7 SOUHRN

Virus vakcínie lze využít pro vyvolání imunitní reakce proti virem produkovanému heterolognímu proteinu a organismus tak připravit na obranu proti přirozenému producentu tohoto antigenu, např. viru nebo nádorových buněk. V naší laboratoři jsou vyvíjeny vakcíny proti nádorům způsobeným lidským papilomavirem typu 16 (HPV16). Používají se rekombinantní viry vakcínie odvozené z replikujícího se kmene P13 nebo atenuovaného MVA. Rekombinantní viry byly použity v profylaktických i terapeutických schématech léčby u myšího modelu nádorových buněk TC-1 či TC-1/A9. Rekombinanty exprimovaly papilomavirový onkogen E7 ve formě vysoce imunogenního SigE7LAMP fúzního konstruktů. Pro podporu imunitního systému byly do virů vloženy navíc i geny pro stimulační cytokiny GM-CSF nebo Flt3 ligand, které vykazují adjuvantní vlastnosti při vyvolání protinádorových odpovědí. Pro imunomodulaci nádorového mikroprostředí byly do rekombinantních virů vloženy geny pro solubilní receptory pro TGF- $\beta$ , jejichž funkcí bylo snížit inhibiční vliv nádorového cytokinu TGF- $\beta$ . Intratumorální či intraperitoneální podání virů vedlo ke zvýšení protinádorové odpovědi, u virů exprimujících Flt3 ligand také ke zvýšení počtu cytotoxických E7-specifických T lymfocytů. Expres GM-CSF a Flt3 ligandu zabránila vzniku supresorových MDSC buněk, ale exprese receptoru pro TGF- $\beta$  překvapivě neovlivnila počet supresorových T-regulačních lymfocytů.

Dále jsme zjistili, že silná exprese Flt3 ligandu *in vitro* u jednoduché rekombinanty vedla ke změnám v proteinovém složení virionů. Málo glykosylovaná molekula ligandu je inkorporována do virionu, docházelo ke špatnému proteolytickému štěpení proteinů virového jádra a ke změnám v obsahu hlavních virových membránových proteinů. Virus byl inhibován při množení v buněčných kulturách krevního původu a v myších ováriích. Inhibice *in vivo* měla také ve srovnání s málo produkujícím virem za následek sníženou hladinu Flt3 ligandu v séru infikovaných myší.