

## Souhrn

V této práci jsem zkoumala vlastnosti myších buněk transformovaných virem HPV16, které byly geneticky modifikovány vnesením genů pro cytokiny, chemokiny a jeden angiostatický gen. Byly testovány hlavní charakteristiky transdukovaných buněk v porovnání s rodičovskými nádorovými buňkami *in vitro* a *in vivo*.

V první části jsem použila buněčnou linii deficientní na buněčnou tymidin kinázu, označenou jako 123IA, která byla odvozena z myších (C57BL/6) ledvinných buněk transformovaných onkogeny E6 a E7 HPV16 a aktivovaným onkogenem *H-ras* označených jako MK16. Buňky 123IA jsem transfekovala bicistronickými plazmidy nesoucími geny pro herpetickou tymidin kinázu (*HSV-TK*), kostimulační molekulu *B7-1* (*CD 80*) nebo chemokin - protein 1 chemoatrahující monocytů (*MCP-1*). Pro kontrolní účely jsem použila plazmid obsahující jen gen pro *HSV-TK*. Do testů jsem zahrнула také dříve izolované buňky B9, které byly transdukovány geny pro faktor stimulující tvorbu kolonií granulocytů a monocytů (*GM-CSF*) a *HSV-TK*. Všechny izolované linie byly citlivé ke gancikloviru, prokazující tak přítomnost HSV-TK. Po inokulaci syngenním myším, byly buňky exprimující *GM-CSF* a *B7-1* neonkogenní. Po očkování buněk produkujících MCP-1 vytvořily téměř všechny myši nádory. Zvířata imunizovaná buňkami produkujícími GM-CSF a B7-1 byla chráněna před následnou čelenží buňkami MK16. Pokud jsem ale při čelenží použila jinou onkogenní buněčnou linii odvozenou z myší C57BL/6 a transformovanou HPV16, zvanou TC-1, která se od buněk MK16 liší v řadě parametrů, pak byl protektivní účinek transdukovaných buněk mnohem menší.

V druhé části mé práce jsem transfekovala buňky MK16 a TC-1 genem pro angiostatický myší protein *endostatin*. Z obou linií jsem izolovala dva klony produkující endostatin. Označila jsem je ME3 a ME9 (odvozené od buněk MK16); a TE2 a TE5 (odvozené od buněk TC-1). Po očkování do myší byly buňky ME3 neonkogenní. Téměř všechny myši očkované buňkami ME9 vyvinuly nádory, ale byla u nich silně omezena tvorba metastáz v porovnání s rodičovskými buňkami MK16. TE2 a TE5 vykazovaly téměř stejný onkogenní potenciál jako rodičovské buňky TC-1. Zvířata imunizovaná buňkami ME3 byla chráněna před čelenží rodičovskými buňkami MK16. Testovala jsem buněčné lyzáty ze všech šesti sledovaných linií, abych zjistila přítomnost 25. faktorů ovlivňujících angiogenezi. Buňky MK16 se lišily od buněk TC-1 a také od všech sublinií produkujících endostatin zejména zvýšenou produkcí interleukinu-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ). Další experimenty prokázaly, že snížení produkce IL-1 $\alpha$  u buněk MK16 vlivem endostatínu byla způsobena autokrinním mechanismem.