

Souhrn

V této práci byly použity geny pro cytokiny, chemokin a angiostatický gen, které byly vneseny do nádorových buněk *in vitro*. Byly testovány hlavní charakteristiky transdukovaných buněk vzhledem k rodičovským nádorovým buňkám *in vitro* a *in vivo*.

V první části jsem použila buněčnou linii deficientní na buněčnou thymidin 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 thymidin kinázu (HSV-TK), kostimulační molekulu B7-1 (CD 80) nebo chemokin - protein 1 chemoatrahující monocytu (MCP-1). Pro kontrolní účely byl použit plazmid obsahující jen *HSV-TK*. Ve studii jsem použila také již dříve izolované buňky B9, které byly transdukovány genem pro faktor stimulující tvorbu kolonií granulocytů a monocytů (*GM-CSF*) a *HSV-TK*. Všechny izolované linie byly citlivé ke gancikloviru, prokazující tak přítomnost funkční HSV-TK a expresi příslušného trans genu. Po očkování syngenních myší, byly buňky exprimující *GM-CSF* a *B7-1* neonkogenní. Po očkování MCP-1 produkujícími buňkami vyvinuly téměř všechny myši nádor. Zvířata imunizovaná buňkami produkujícími *GM-CSF* a *B7-1* byla ochráněna před následnou čelení buňkami MK16. Pokud jsem ale při čelení 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 jako je to, že mají MHC-I a *B7-1*, pak byl protektivní účinek transdukovaných buněk mnohem menší.

V druhé části této 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 stejný onkogenní potenciál jako rodičovské buňky TC-1. Zvířata imunizovaná buňkami ME3 byla chráněna před čelení 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 α (IL-1 α). Další experimenty prokázaly, že snížení produkce IL-1 α u buněk MK16 vlivem endostatinu byla způsobena autokrinním mechanismem.