

Vývoj vakcíny proti nádorovému antigenu WT1

Gen Wilmsova tumoru (WT1) je exprimován ve velkém množství u většiny typů leukémií a u solidních nádorů včetně nádorů plic a prsu. Protein WT1 tak může sloužit jako vhodný nádorový antigen pro imunoterapii.

Připravili jsme vakcínu na bázi adenylátcyklázového toxinu (CyaA) z bakterie *Bordetella pertussis*. CyaA je schopný vázat se na buňky exprimující $\alpha_M\beta_2$ integrinový receptor CD11b/CD18 a dokáže prostoupit do cytosolu buněk prezentujících antigen, včetně buněk dendritických. Těchto vlastností CyaA se využívá pro dopravení vložených antigenů pro zpracování a prezentaci na MHC gp I. i MHC gp II. třídy. Na místo 336. AK detoxifikovaného vektoru CyaA jsme vložili úsek dlouhý 155 AK (94-249) myšího proteinu WT1. Fúzní gen CyaA-WT1 jsme použili k produkci rekombinantního proteinu v bakteriích *E. coli*. Ověřili jsme, zda má protein CyaA-WT1 zachovanou schopnost vazby na dendritické buňky. Dále jsme zkonstruovali DNA vakcínu pBSC/GUS-WT1, obsahující fúzní gen GUS se stejným inzertem WT1, a ověřili jsme expresi pBSC/GUS-WT1 v savčích buňkách.

Pro testování účinku vakcín u myší (C57BL/6) jsme pomocí buněčné linie FBL3 zavedli nádorový model exprimující gen WT1. Sledovali jsme účinek protektivní imunizace vakcínou CyaA-WT1 a DNA vakcínou pBSC/GUS-WT1 na růst nádorových buněk. U skupiny myší, kterým byla podána vakcína CyaA-WT1, jsme nezaznamenali žádný efekt, zatímco u myší imunizovaných DNA vakcínou došlo k měřitelnému omezení nádorového růstu, který však nebyl statisticky průkazný. U myší imunizovaných vakcínou CyaA-WT1 a DNA vakcínou jsme stanovovali buněčnou imunitní odpověď specifickou pro protein WT1 *in vitro* pomocí testů ELISPOT-IFN- γ a měření hladiny intracelulárního IFN- γ . Naměřené hodnoty byly ve všech případech velmi nízké.

Klíčová slova: gen Wilmsova tumoru, WT1, adenylátcyklázový toxin, CyaA, DNA vakcíny, GUS, CML, nádorová imunoterapie