

## **Abstrakt dizertačnej práce**

### **Génová imunoterapia nádorov: DNA vakcíny proti HPV 16**

**Mgr. Ingrid Poláková**

Cervikálny karcinóm (CC), asociovaný s infekciou ľudským papilomavírusom (HPV), predstavuje druhé najrozšírenejšie nádorové ochorenie žien. V súčasnej dobe sú na trhu dve profylaktické vakcíny, ktoré sú schopné navodiť ochranu proti HPV 16 a HPV 18. Profylaktické vakcíny však nemôžu poslúžiť ako liečba už existujúcich HPV infekcií. Preto je žiaduce vyvinúť terapeutické vakcíny, ktoré by si poradili aj s rastúcimi nádormi. Virálne onkoproteíny E6 a E7 sú vhodným cieľom pre vývoj vakcín proti HPV. DNA vakcíny sa postupom času stali účinným prostriedkom pre vývoj vakcín proti nádorovým ochoreniam, teda aj proti CC. Bohužiaľ ich účinnosť na väčších zvieratách a hlavne ľuďoch je nízka. V súčasnej dobe prebieha niekoľko štúdií, ktoré sa sústreďujú na zvýšenie účinnosti a bezpečnosti DNA vakcín proti ľudským papilomavírusom.

V tejto práci bola hodnotená imunogénnosť DNA vakcín proti HPV 16 po fúzii génov E7 a E6 s génom GUS a po ich podaní pomocou génovej pištole. Zvýšená hladina produkcie delečných mutantov E7GGG.GUS a fúzneho proteínu GUS.E7GGG po imunizácii s týmito vakcínami zvýšila produkciu protilátok špecifických proti E7, ale nezlepšila odpoveď cytotoxických T lymfocytov. Pripojenie signálnej sekvencie k GUS.E7GGG viedlo k lokalizácii fúzneho proteínu SS.GUS.E7GGG do ER, u imunizovaných myší k zvýšeniu bunkovej imunitnej odpovedi a k spomalenému rastu nádorov. Zvýšená imunogénnosť bola zaznamenaná po imunizácii s génom E6 fúzovaným s 3'- koncom génu GUS (GUS.E6). Odstránenie zostrihového miesta v géne E6 viedlo k úplnej eliminácii expresie skrátených transkriptov E6. Zároveň táto modifikácia mierne znížila imunogénnosť fúznych génov (GUS.E6cc) alebo génov bez fúzie (E6cc). Zavedenie dvoch bodových mutácií do proteínu E6 malo za dôsledok zníženie jeho onkogénnosti. Modifikovaný proteín E6GT nebol schopný navodiť degradáciu p53, na druhú stranu však tieto substitúcie výrazne neovplyvnili jeho imunogénnosť.

Dizertačná práca ďalej rozoberá jednu z možností mechanizmu úniku nádoru z dohľadu imunitného systému a porovnáva dve rôzne metódy podania peptidových vakcín, imunizáciu pomocou prístroja na tetovanie a subkutánne injekčné podanie vakcín. Substitúcia N53S v imunodominantnom epitope (aa 49-57) RAHINIVTF proteínu E7 je zodpovedná za imunorezistenciu klonov TC-1 odvodených z nádorov imunizovaných myší. Podávanie

peptidových vakcín, odvodených od peptidov E7 a E6, tetovaním indukuje vyššiu bunkovú a protilátkovú imunitnú odpoveď než subkutálne injekčné podanie tej istej vakcíny.