

## Abstrakt

Disertační práce je z velké části zaměřena na vývoj a zvýšení imunogennosti experimentálních DNA vakcín proti onkoproteinu E7 lidského papilomaviru typu 16 a proti centrozomálním proteinům aurora kináza A (Aurka) a Hmmr, jejichž exprese je zvýšena u solidních nádorů, ale i hematologických malignit. DNA vakcíny jsme modifikovali signálními sekvencemi lysozomálního proteinu LAMP-1 a pomocnými epitopy p30 z tetanového toxinu nebo PADRE navrženého *in silico*. Po intradermální aplikaci DNA vakcín myším genovou pistolí jsme stanovovali imunitní reakce *in vitro* pomocí testů ELISPOT a ELISA a sledovali jsme protinádorový účinek DNA vakcín *in vivo*. Pomocný epitop PADRE účinněji stimuloval specifickou imunitní odpověď Th1 a zvyšoval protinádorový účinek DNA vakcín v porovnání s epitopem p30. Nepodařilo se nám však prokázat protinádorový účinek samotných DNA vakcín proti antigenům Aurka a Hmmr. Pro dosažení terapeutického účinku imunoterapie namířené proti antigenu Aurka byla nutná kombinace DNA vakcíny s deplecí protilátkou proti molekule CD25 a s protilátkou proti inhibičnímu receptoru PD-1. Zatímco účinek protilátky proti CD25 byl závislý na počtu dávek a typu depletovaných buněk, u anti-PD-1 byl významným faktorem odklad podávání protilátky vzhledem k počátku DNA imunizace. Získané výsledky dále svědčí o tom, že potlačení imunosupresivních mechanismů v nádorech může být pro účinnost kombinované imunoterapie významnější než míra indukce specifické odpovědi proti nádorovému antigenu. Abychom posoudili význam centrozomálních proteinů jako cílů pro imunoterapii u chronické myeloidní leukemie (CML), stanovili jsme v průběhu léčby imatinibem expresi genů AURKA, HMMR, PLK1 a ESPL1 v mononukleárních buňkách periferní krve pomocí RT-qPCR a tvorbu protilátek proti příslušným centrozomálním proteinům testem ELISA. V porovnání se zdravými dárci byla u pacientů s CML v době diagnózy exprese významně zvýšena u všech čtyř genů. V průběhu léčby došlo u všech pacientů k obnovení základní úrovně exprese těchto genů. U většiny pacientů došlo k poklesu během tří měsíců. U zbývajících pacientů (17 %), u kterých byl pokles oddálen, jsme zaznamenali zhoršené celkové přežívání. Dále jsme u pacientů s CML prokázali statisticky významně zvýšené množství protilátek proti antigenům PLK1 a ESPL1. Pacienti s vyšší celkovou tvorbou protilátek proti čtyřem testovaným antigenům dosahovali lépe velké molekulární odpovědi a bylo u nich lepší přežívání bez selhání léčby. Tyto výsledky svědčí o tom, že imunitní odpověď proti centrozomálním proteinům může přispívat k protinádorové léčbě.

### Klíčová slova:

DNA vakcína, DNA imunizace, pomocný epitop, centrozomální proteiny, CD25 deplece