

## Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: RNDr. Peter Kabát, CSc.	Evidenčné číslo projektu: <b>APVT -20-008904</b>
Názov projektu: Príprava rekombinantného ľudského interferónu a analýza jeho biologických účinkov s dôrazom na potenciálne terapeutické využitie.	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Katedra mikrobiológie a virológie Prírodovedeckej fakulty UK
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	-

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	žiadne
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače alebo pripravované): <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	<p>Kontseková S. a Kabát P. (2007): Ľudské interferóny-Charakterizácia a klinické využitie, Bulletin Československej spoločnosti Mikrobiologickej, s.182-206</p> <p>Betáková T., Bálintová K., Ohradaňová A., Kabát P. (2007): Preparation of recombinant human interferon lambda 1 and analysis of its antiviral activities against influenza and vaccinia viruses, Third European Congress of Virology, Norimberg, (poster)</p> <p>Tóthová V., Sukopová I., Mistríková J., Kabát P. (2007): Analysis of biological activities of human recombinant interleukin IL-29, Bulletin Československej spoločnosti Mikrobiologickej-24. Konferencia Československej spoločnosti Mikro-biologickej, Liberec ( poster)</p> <p>Belvončíková P.,Tóthová V., Vančová I., Režuchová I., Kúdelová M., Kabát P., (2008): Testovanie väzbovej aktivity M3 proteínu kódovaného myšacím gamaherpetickým vírusom (MHV) k interferónu lambda 1., Študentská vedecká konferencia - Zborník recenzovaných príspevkov, s.30-32. (publikácia v zborníku a poster)</p> <p>Lukáčiková L., Ohradaňová A., Kabát P., Tomášková J., (2008):Vplyv IFN-λ na prenos vírusu lymfocytárnej choriomeningitídy. Študentská vedecká konferencia – Zborník recenzovaných príspevkov s .195-197. (publikácia v zborníku a prednáška)</p>
V čom vidíte uplatnenie výsledkov tohto projektu:	Analýza biologických aktivít rIFNs-λ pomôže definovať klinické podmienky, pri ktorých bude tieto interferóny možné terapeuticky využiť. Okrem vedeckého prínosu je možné neskôr očakávať i ekonomický prínos, vyplývajúci z uplatnenia IFN-λ1 pri liečbe niektorých ochorení. Selektovanie chemokínov viazaných M3 proteínom u MHV pomôže lepšie pochopiť spôsoby, ktorými vírusy prekonávajú obranné mechanizmy infikovanej bunky.

**Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas ku zverejneniu údajov v nej uvedených.**

Podpis riešiteľa: .....

**Dátum: 21.7.2008**

## Charakteristika výsledkov

Evidenčné číslo: APVT -20-008904

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Cieľom projektu bola príprava rekombinantného ľudského IFN- $\lambda$ 1 a charakterizácia jeho základných biologických vlastností, s dôrazom na možnosť terapeutického využitia v humánnej medicíne. PCR produkty nielen pre ľudský IFN- $\lambda$ 1, ale i  $\lambda$ 2 a  $\lambda$ 3 získané amplifikáciou z cDNA sme klonovali do prokaryotického expresného vektora pGEX-T1 a eukaryotického expresného vektora pcDNA3.1(+). Získali sme bakteriálne klony *E.coli* a bunkovú líniu A549 stabilne produkujúce všetky tri typy IFN skupiny  $\lambda$ . Naprodukovaný rIFN- $\lambda$ 1 sme purifikovali z bakteriálneho lyzátu pomocou afinitnej chromatografie a použili na prípravu polyklonových sér. Vyčistený rIFN- $\lambda$ 1 a bunkové línie A549 produkujúce IFN- $\lambda$ 1,  $\lambda$ 2 a  $\lambda$ 3, boli ďalej používané na analýzu antivírusových, antiproliferačných a imunomodulačných vlastností. Antivírusové vlastnosti IFN-ov  $\lambda$  boli študované na rekombinantnom víruse chrípky Bro2a, víruse lymfocytárnej choriomeningitídy (LCMV) a myšacom gammaherpetickom víruse (MHV). Pomocou línie buniek A549, ktoré stabilne produkovali IFN- $\lambda$ 1,  $\lambda$ 2 a  $\lambda$ 3 sme dokázali, že IFN  $\lambda$ 2 a  $\lambda$ 3 majú schopnosť obmedziť replikáciu LCMV *in vitro*. IFN  $\lambda$ 2 má najvýraznejší antivírusový efekt voči LCMV, IFN  $\lambda$ 2 prejavil len istý stupeň antivírusovej aktivity a IFN- $\lambda$ 1 nemal žiadny vplyv na prenos a šírenie vírusu. Pri testovaní vplyvu rIFN- $\lambda$ 1 na množenie MHV sme potvrdili jeho antivírusové účinky voči tomuto vírusu, avšak vírusový izoláty kódajúci proteín M3 blokujúci biologické aktivity chemokínov bol schopný potláčať tento účinok. V následných experimentoch sme potvrdili, že M3 proteín viaže rIFN- $\lambda$ 1. Väzobná aktivita rekombinantného M3 proteínu k IL29 bola v rozmedzí všetkých testovaných koncentrácií (125-2000pg) o niečo vyššia ako väzobná aktivita M3 proteínov MHV60 a MHV68 prítomných v médiu BHK-21 buniek infikovaných týmito vírusmi. Potvrdili sme, že replikácia chrípkového vírusu Bro2a je taktiež citlivá voči antivírusovým účinkom rIFN- $\lambda$ 1. Z našich experimentov ďalej vyplýva, že rIFN- $\lambda$ 1 nevykazuje žiadne antiproliferatívne aktivity voči nádorovým bunkovým líniam HL-60, C33, HT-29, HeLa, CGL3 a SiHa. Nepotvrdil sa ani účinok rIFN- $\lambda$ 1 na cytotoxickú aktivitu ľudských NK buniek.

### Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

The primary goal of this project was the preparation of a recombinant human IFN- $\lambda$ 1 and characterization of its fundamental biological activities with an emphasis on the possibility of its therapeutic application in medicine. IFN- $\lambda$ 1,  $\lambda$ 2 and  $\lambda$ 3 PCR products were obtained from cDNA amplification and cloned into prokaryotic expression vector pGEX-T1 and eukaryotic expression vector pcDNA3.1(+). After transformation of *E.coli* and transfection of A549 cell line with these vectors, bacteria and cells producing interferons were obtained. rIFN- $\lambda$ 1 was then isolated and purified from *E.Coli* by affinity chromatography and used for polyclonal antibody preparation. A549 cell line producing IFN- $\lambda$ 1,  $\lambda$ 2 and  $\lambda$ 3 and purified rIFN- $\lambda$ 1 were used for the study of their antiviral, antiproliferating and immunomodulating activities. IFNs antiviral activity was tested on recombinant influenza virus Bro2a, Lymphocytic choriomeningitis virus (LCMV), and murine gammaherpesvirus (MHV). We used A549 cell line producing IFN- $\lambda$ 1,  $\lambda$ 2 a  $\lambda$ 3 for the study of antiviral activities against LCMV. This cell line was infected by a cell-free extract prepared from MaTu cell line, producing LCM virus strain MX. On basis of our findings, we can tell that IL-28a and IL-28b have the ability to reduce replication of LCMV *in vitro*, while IL-29 displayed no antiviral activity. Purified rIFN- $\lambda$ 1 has also showed antiviral activity against some strains of MHV, but MHV virus coding the M3 protein was able to suppress this effect. We demonstrate that M3 protein is able to bind rIFN- $\lambda$ 1. rIFN- $\lambda$ 1 and IFNs from A549 cells were also able to inhibit replication of influenza virus Bro2a. rIFN- $\lambda$ 1 did not show any antiproliferating activities in any of the tested cancer cell lines (HL-60, C33, HT-29, HeLa, CGL3 a SiHa). We also did not observe any immunomodulating effect of rIFN- $\lambda$ 1.

Podpis riešiteľa: .....