

## Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: RNDr. Marcela Kúdelová, DrSc.	Evidenčné číslo projektu: APVV-0621-12
Názov projektu: Myší herpetický vírus, producent látok s imunomodulačnými a antiproliferatívnymi vlastnosťami	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Virologický ústav Biomedicínskeho centra SAV v Bratislave
	Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	Dr. Phil Stevenson, University of Cambridge, School of the Biological Sciences, Department of Pathology, Addenbrookes Hospital, Hills Road, Cambridge, United Kingdom

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	
<b>Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uvedte i publikácie prijaté do tlače):</b>  <i>Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.</i>	<u>MATÚŠKOVA R, PANCIK, P, ŠTIBRANIOVA I, BELVONCIKOVA P, REZUCHOVA I, KUDELOVA M</u> (2015). Soluble M3 proteins of murine gammaherpesviruses 68 and 72 expressed in <i>Escherichia coli</i> : analysis of chemokine binding properties <i>Acta Virol</i> 59 (4), pp 360-368 (IF <sub>2014</sub> 1,28)
	<u>LOPUŠNÁ K, BENKÓCZKA T, LUPTÁK J, MATÚŠKOVÁ R, LUKÁČIKOVÁ I, OVEČKOVÁ I, REŽUCHOVÁ I</u> (2016) Murine gammaherpesvirus targets type I IFN receptor but not type III IFN receptor early in infection. <i>Cytokine</i> , 83, p158-170. ISSN 1043-4666. doi: 10.1016/j.cyto.2016.04.013 (IF <sub>2015</sub> 1,28)
	<u>MRÁZOVÁ V - KÚDELOVÁ M - SMOLINSKÁ M - NOVÁKOVÁ E - ŠUPOLÍKOVÁ M - VRBOVÁ M - GOLAIS F</u> (2017): Transformation of Cells by Photoinactivated Murine Gamma-Herpesvirus 68 during Nonproductive and Quiescent Infection. <i>Intervirology</i> , DOI: 10.1159/00047937,
	<u>MRÁZOVÁ V, BETÁKOVÁ T, M. KÚDELOVÁ M, ŠUPOLÍKOVÁ M, LACHOVÁ V, LAPUNÍKOVÁ B, GOLAIS F</u> (2015) Murine gammaherpes virus (MHV-68) transforms cultured cells in vitro. <i>58</i> (2), 69-72, <i>Intervirology</i> DOI: 10.1159/000370071 (IF <sub>2014</sub> 1,68)
	<u>ŠUPOLÍKOVÁ M, VOJS-STANOVA A, KÚDELOVÁ M, MARÁK J, ZELNÍK V, GOLAIS F</u> (2015) Cells transformed by Murine herpesvirus 68 (MHV-68) release compounds with transforming and transformed phenotype suppressing activity resembling growth factors <i>Acta Virol</i> 59 (4), pp 418-422 (IF <sub>2014</sub> 1,28)
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	<b>Možnosť cielene modulovať väzbu chemokínov rekombinantným M3 proteínom žiadúcej pri terapii porúch imunitnej odpovede a reálnu možnosť využiť MHGF68 a nádorové línie na rozšírenie poznania mechanizmov vírusovej transformácie buniek</b>



**Agentúra na podporu výskumu a vývoja**  
Mýtna 23, P.O.BOX 346, 814 99 Bratislava

## Charakteristika výsledkov

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

Interakcie medzi gHV a ich hostiteľmi môžu viesť k transformácii buniek, k lymfoproliferatívnym poruchám a nádorom, ktorých mechanizmus, vrátane odpovede hostiteľa na vírusovú infekciu, nie je dobre pochopený. MHV-68, ktorý má výrazný onkogénny potenciál, produkuje imunomodulačný M3 proteín a látky príbuzné rastovým faktorom, ktoré majú anti-immunoproliferatívne vlastnosti. Pri štúdiu cielene mutovaných rekombinantných M3 proteínov sme identifikovali niekoľko neesenciálnych aminokyselín, ktoré špecifikujú a zvyšujú väzbu proteínu M3 k chemokínom (CCL5, CXCL8, CCL3), čo podporuje jeho potenciálne použitie pri liečbe ochorení súvisiacich s dysreguláciou chemokínovej siete. Preukázali sme, že rôzne kmene MHV interagujú odlišne s intracelulárnou signalizáciou a že epigenetická modifikácia promotora Rta (ORF50) nie je zodpovedná za odlišnú reaktiváciu rôznymi kmeňmi MHV. Demonštrovali sme, že signalizácia IFN typu III môže zohrávať kľúčovú úlohu v antivírusovej obrane v období skorej infekcie epiteliálnych buniek. Charakterizovali sme diferenciálnu expresiu MHV-68 a bunkových génov v bunkách nádorovej S11E línie indukovanú hypoxiou a chemickým induktorom reaktívácie TSA. V médiách buniek infikovaných MHV-68 sme identifikovali a vyčistili látky podobné rastovým faktorom (onačené ako MHGF68) popísané u iných herpesvírusov. Potvrdili sme vírusový pôvod a komplexnú štruktúru MHGF68. Naše výsledky na normálnych/nádorových myšiacich a ľudských bunkových modeloch jasne ukázali, že MHGF68 je súbor bioaktívnych látok. Frakcie MHGF68 získané niekoľkými analytickými metódami transformovali normálne bunky (vykazujú rozpad aktínových filamentov), ale tiež potlačali transformačné procesy započaté v bunkách. Prvé výsledky na modeli myši s nádormi indukovanými Hepa bunkami naznačujú určitú schopnosť MHGF68 spomaliť rast nádorov. Dokázali sme tiež schopnosť HSV1 a HSV2 transformovať bunky *in vitro* po ožiarení UV svetlom alebo po fotoinaktivácii v prítomnosti metylénovej modrej. Posledné výsledky vyvolávajú otázku rizika používania metylénovej modrej pri fototerapii herpetických lézií. Výsledky projektu prispievajú k objasneniu potenciálneho terapeutického využitia M3 proteínu a MHGF68 a lepšiemu pochopeniu chronickej infekcie ľudí s gHV.

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

Interactions between  $\gamma$ HVs and their hosts may lead to cell transformation resulting to lymphoproliferative disorders and tumors the mechanism of which including host response on virus infection is not well understood. MHV-68 possessing marked oncogenic potential produces immunomodulatory M3 protein and growth factor related substances with anti-immunoproliferative properties. Studying site-directly mutated recombinant M3 proteins we identified several nonessential amino acids which specify and enhance binding of M3 protein to chemokines (CCL5, CXCL8, CCL3) supporting its potential use in therapy of diseases related to chemokine network dysregulation. We demonstrated that various MHV strains differentially interact with intracellular signaling and epigenetic modification of *Rta* (ORF50) promoter is not responsible for distinct reactivation patterns of murine gammaherpesviruses. We demonstrated that type III IFN signaling might play a key role in antiviral defense in early infection of epithelial cells. We characterized differential expression of MHV-68 and cell genes in tumor S11E cells induced by hypoxia and chemical reactivation inducer TSA. In media of MHV-68 infected cells we identified and purified substance/s resembling growth factors (designed as MHGF68) related to other herpesviruses. We confirmed its viral origin and complex structure. Our results on normal/tumor mouse and human cell models clearly showed that MHGF68 is a set of bioactive compounds. Fractions of MHGF68 gained by several analytical methods were demonstrated enable to transform normal cells (exhibiting disintegration of actin filaments) but also to repress transformation processes started in cells. First results on mice model with tumors induced by Hepa cells indicate some ability of MHGF68 to slow the growth of tumors. We also demonstrated the ability of HSV1 and HSV2 to transform cells *in vitro* following irradiation with UV light or after photoinactivation in the presence of methylene blue. Latter results raise the question of risk of the use of methylene blue currently used in phototherapy of herpetic lesions. The results of the project contribute to the elucidation of the potential therapeutic use of M3 protein and MHGF68 and a better understanding of the chronic

**Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.**

Podpis zodp. riešiteľa: .....

Dátum: .....

Podpis štatutárneho zástupcu: .....

Pečiatka: