

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **APVV-14-0839****Modulácia imunitnej odpovede cytomegalovírusom a jej imunoterapeutický potenciál**Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Ivana Nemčovičová, PhD.**Príjemca **Biomedicínske centrum SAV - Virologický ústav**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Biomedicínske centrum SAV (hlavný riešiteľ)

Externí partneri: Ústav molekulárnej biológie SAV a Chemický ústav SAV

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Externí partneri: Viedenské biocentrum, Rakúsko; La Jolla inštitút, Kalifornia; Sanford Burnham inštitút, Kalifornia

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

--

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

Výbrané vedecké publikácie (Kategória: 1.02)

- (1) BIRTA, Aruna - NEMČOVIČOVÁ, Ivana - PICARDA, G. - DOUKOV, T. - WANG, J. - BENEDICT, C.A. - ZAJONC, D.M. Structure of human cytomegalovirus UL144, an HVEM orthologue, bound to the B and T cell lymphocyte attenuator. In Journal of Biological Chemistry, 2019, vol. 294, no. 27, p. 10519-10529. (4.200 - IF2017)
- (2) ŠEDÝ, J.R. - BALMERT, M. Olivia - WARE SMITH, Wendell - NEMČOVIČOVÁ, Ivana - NORRIS, P. - MILLER, Brian R. - AIVAZIAN, Dikran - WARE, C.F. A herpesvirus entry mediator mutein with selective agonist action for the inhibitory receptor B and T lymphocyte. In Journal of Biological Chemistry, 2017, vol. 292, no. 51, p. 21060-21070. (4.125 - IF2016)
- (3) ALTEEN, M.G. - OEHLER, V. - NEMČOVIČOVÁ, Ivana - WILSON, I.B.H. - VOCADLO, V.J. - GLOSTER, T.M. Mechanism of Human Nucleocytoplasmic Hexosaminidase D. In Biochemistry, 2016, vol. 55, p. 2735-2747. (2.876 - IF2015)

--

Vybrané recenzované príspevky (Kategória: 1.06-1.09):

- (1) NEMČOVIČOVÁ, Ivana - BENKO, Mário - NEMČOVIČ, Marek. Site-specific analysis of UL144 protein from human cytomegalovirus highlights its role in virus-mediated immune evasion. In Acta Cryst A, 2018, vol. 74, p. 189-190. (7.930 - IF2017). ISSN 2053-2733
- (2) BENKO, Mário - NEMČOVIČ, Marek - NEMČOVIČOVÁ, Ivana. Preliminary crystallization of cytomegalovirus UL144 glycan-deficient mutein recombinantly produced in baculovirus-insect expression system. In Študentská vedecká konferencia PriF UK 2019: Zborník recenzovaných príspevkov, 2019, p.45-58. ISBN 978-80-223-4711-2
- (3) LENHARTOVÁ, Simona - HOLÍKOVÁ, Viera - BENKO, Mário - NEMČOVIČOVÁ,

Ivana. Preparation and purification of the human immune inhibitory receptor CD160 in insect cells. In Študentská vedecká konferencia PriF UK 2019: Zborník recenzovaných príspevkov, 2019, p.344-348. ISBN 978-80-223-4711-2

(4) NEMČOVIČOVÁ, Ivana - NEMČOVIČ, Marek - KÚDELOVÁ, Marcela - ZAJONC. Isolation, purif. and crystalization of a novel bidirectional NK ligand CD160 in complex with HVEM. In Acta Cryst A, 2016, vol.72, no.1, p.242. (2.333 - IF2015). ISSN 2053-2733

Uplatnenie výsledkov projektu

Uplatnenie výsledkov projektu spočíva v lepšom pochopení úlohy imunomodulačných génov cytomegalovírusu pri imunitnej odozve z hľadiska ich potenciálneho využitia v imunoterapii.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

V rámci naplnenia cieľov projektu sme sa snažili charakterizovať vybrané vírusové gény z UL/b' lokusu (funkčný v klinických vzorkách) kódované virulentnými kmeňmi HCMV a ich endogénnymi partnermi prezentovanými na bunkovom povrchu. Vieme, že spoločná signalizácia na normálnych alebo infikovaných bunkách je komplexný proces, ktorý je koordinovaný sieťou interakcií receptorov a ligandov na povrchu bunky, preto vírusové proteíny, ktoré tu študujeme, môžu byť ideálnym cieľom terapeutických protilátok. V spolupráci s našimi partnermi sa nám podarilo vyriešiť trojrozmerné štruktúry vírusového glykoproteínu UL144 ako aj jeho ľudského ortológa HVEM a presne charakterizovať väzbu s BTLA. Ako sa predpokladalo, atómová štruktúra UL144 napodobňuje povrch HVEM, ale bolo tiež zistené, že obidve molekuly HVEM aj UL144 viažu spoločný epitop BTLA, či už sa podieľajú na trans alebo cis väzbe, ktorý je zdieľaný agonistom protilátky BTLA. Sekvencia UL144 vykazuje významné množstvo N-viazaných glykozylačných miest v extracelulárnej časti génu. Ako sme zistili, mnohé z nich nie sú prítomné v iných vírusových druhoch, čo naznačuje, že potenciálna glykozylácia je dôležitá len u ľudí a zohráva preto významnú úlohu pri rozpoznávaní receptov. Preto sme sledovali aj vplyvy posttranslačných modifikácií na samotné rozpoznávanie bunkových receptorov pri imunitnej odpovedi. Tieto analýzy nám pomohli odhaliť vplyv N-glykánov pri bunkovej regulácii TRAIL apoptózy a vplyv na HCMV UL141 pri viruprotektívite v bunke. Ďalej sme poodhalili rozpoznávanie vírusového glykoproteínu UL144 vzhľadom na jeho glykozyláciu voči signálnym molekulám CD160 a BTLA. Riešenie projektu prinieslo nové poznatky o molekulových dráhach, ktoré sú ovplyvnené vírusom HCMV a prispeli k naplneniu definovaných cieľov.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

To accomplish the objectives of the project, we sought to characterize selected viral genes from the UL/b' locus (functional in clinical isolates) encoded by virulent strains of HCMV and their endogenous partners presented on the cell surface. As known, the co-signaling on normal or infected cells is a complex process that is coordinated by a network of receptor-ligand interactions on the cell surface, hence the viral proteins studied here may be the ideal target of therapeutic antibodies. In cooperation with our partners, we managed to solve the three-dimensional structures of viral UL144, its human ortholog HVEM and to characterize their binding with BTLA. As expected, the atomic structure of the viral UL144 closely mimics the HVEM surface, but both HVEM and UL144 have also been found to bind a common BTLA epitope, whether involved in trans or cis binding, which is shared by the BTLA antibody agonist. The sequence of HCMV UL144 shows a significant amount of N-linked glycosylation sites in the extracellular portion of the gene. As we found, many of them are not present in other viral species, suggesting that potential glycosylation is important only in humans and therefore plays an important role in receptor recognition. Therefore, we also studied the effects of posttranslational modifications on the recognition of cellular receptors in the immune response. These analyzes helped us to reveal the effect of N-glycans on cell regulation of TRAIL apoptosis and the effect on HCMV UL141 in viruprotectivity in the cell. Furthermore, we revealed the function of the glycosylation in recognition of the viral glycoprotein UL144 towards CD160 and BTLA signaling molecules. The project has brought new insights into molecular pathways that are affected by HCMV immunomodulation at the molecular level and have contributed to the fulfillment of defined objectives.