



Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-19-0376

Vývoj bioimunoterapeutík inšpirovaný vírusovými trikmi: Liečenie aj napriek trikom

Zodpovedný riešiteľ **Mgr. Ivana Nemčovičová, PhD.**

Príjemca

Biomedicínske centrum SAV, v. v. i. - Virologický ústav

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

Biomedicínske centrum SAV a Chemický ústav SAV

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

Externí partneri spolupracujúci pri riešení:

Vienna BioCenter, Austria

La Jolla Institute, California

University of Tsukuba, Japan

Cardiff University, United Kingdom

Masaryk University, Czech Republic

Palacky University, Czech Republic

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

V súvislosti s riešením projektu BIOTREAT zatiaľ neboli podané patentové prihlášky.

Výsledky projektu boli publikované vo verejne dostupných zdrojoch s otvoreným prístupom.

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

Výsledky projektu BIOTREAT boli doposiaľ uverejnené v 10 publikáciách v zahraničných karentovaných časopisoch s kumulatívnym IF = 44 (z toho 5 publikácií s IF > 5.0), pričom všetky v Q1-2. Tieto publikácie získali už počas doby riešenia viac ako 25 ohlasov v zahraničných časopisoch (registrované WOS a Scopus). Získané výsledky sú súčasťou 2 dizertačných prác a boli prezentované na významných medzinárodných zahraničných aj domácich konferenciách. Spolu viac ako 35 konferenčných príspevkov, z toho 10 domácich a 25 zahraničných. A ďalšie 2 publikácie sú v príprave (Nemčovičová et al. a Sládek et al.)

[1] (2021) SLÁDEK, V - HARADA, R - SHIGETA, Y. Residue folding degree - relationship to secondary structure categories and use as collective variable. In International Journal of Molecular Sciences, 2021 (22) 13042. (2020: Q1 - JCR, 1.455 - SJR, Q1 - SJR). <https://doi.org/10.3390/ijms222313042>. Typ: ADCA. [IF 5.924]

[2] (2021) LENHARTOVÁ, S - NEMČOVIČ, M - ŠEBOVÁ, R - BENKO, M - ZAJONC, D. - NEMČOVIČOVÁ, I. Molecular characterization of the native (non-linked) CD160-HVEM protein complex revealed by initial crystallographic analysis. In Crystals, 2021 (11) 7, 820 (2020: 0.538 - SJR, Q2 - SJR). <https://doi.org/10.3390/cryst11070820> Typ: ADCA [IF 2.59]

- [3] (2021) SLÁDEK, V - YAMAMOTO, Y - HARADA, R - SHOJI, M - SHIGETA, Y - SLÁDEK, V. pyProGA - A PyMOL plugin for protein residue network analysis. In PLoS ONE, 2021 (16) e0255167 (2020: 0.990 - SJR, Q1 - SJR). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0255167> Typ: ADCA [IF 3.240]
- [4] (2022) SLÁDEK, V - FEDOROV, D. The importance of charge transfer and solvent screening in the interactions of backbones and functional groups in amino acid residues and nucleotides. In Intl Journal of Molecular Sciences, 2022 (23) 13514. (2021: 1.176 - SJR, Q1 - SJR). Dostupné: <https://doi.org/10.3390/ijms232113514> Typ: ADCA [IF 6.208]
- [5] (2023) ŠAMŠULOVÁ, V - ŠEDIVÁ, M - KÓŇA, J - KLAUDINY, J - POLÁKOVÁ, M. A Comparison of the antibacterial efficacy of carbohydrate lipid- like (thio)ether, sulfone, and ester derivatives against paenibacillus larvae. In Molecules, 2023, 28, 2516 (2022: 0.704 - SJR, Q1 - SJR) <https://doi.org/10.3390/molecules28062516> Typ: ADCA [IF 4.927]
- [6] (2023) KALNÍK, M - ŠESTÁK, S - KÓŇA, J - BELLA, M - POLÁKOVÁ, M. Synthesis, α -mannosidase inhibition studies and molecular modeling of 1,4-imino-D-lyxitols and their C-5-altered N-arylalkyl derivatives. In Beilstein Journal of Org Chemistry, 2023, vol. 19, p. 282-293. <https://doi.org/10.3762/bjoc.19.24>. (2022: 0.664 - SJR, Q2 - SJR) Typ: ADCA [IF 2.777]
- [7] (2023) PAULOVÍČOVÁ, E - PAULOVÍČOVÁ, L - POLÁKOVÁ, M. Glycolipids mimicking biosurfactants of the synthetic origin as new immunomodulating and anticandidal derivatives. In Carbohydrate Research, 2023, (534) 108978. (2022: 0.464 - SJR, Q2 - SJR). <https://doi.org/10.1016/j.carres.2023.108978> Typ: ADCA [IF 3.120]
- [8] (2023) SLÁDEK, V - ŠMAK, P - TVAROŠKA, I. How E , L , and P selectins bind to sLex and PSGL-1: A quantification of critical residue interactions. In Journal of Chemical Information and Modeling, 2023, 63, 5604 - 5618. (2022: 1.357 - SJR, Q1 - SJR). Dostupné: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jcim.3c00704?ref=PDF> Typ: ADCA [IF 5.601]
- [9] (2023) SHIRKOV, L - SLÁDEK, V. Ab initio relativistic potential energy surface with analytical long-range part of benzene-Rn complex and its application to intermolecular vibrations. In Chemical Physics, 2023 (565) 111756. (2022: 0.448 - SJR, Q2 - SJR). <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2022.111756> Typ: ADCA [IF 2.552]
- [10] (2024) NEMČOVIČOVÁ, I - LOPUŠNÁ, K - ŠTIBRÁNIOVÁ, I - et al. Identification and evaluation of antiviral activity of novel compounds targeting SARS-CoV-2 virus by enzymatic and antiviral assays, and computational analysis. In J Enz Inhib & Med Chem, 2024, 39 (1) 2301772 (2023: Q1 - SJR). <https://doi.org/10.1080/14756366.2024.2301772> Typ: ADCA [IF 6.50]
- [11] (2024) NEMČOVIČOVÁ, I, et al. Small glycomimetic serves as antagonist to viral glycoprotein HCMV UL141 to inhibit the TRAIL death receptor binding. In Journal of Biological Chemistry, 2024 (currently under review) (2023: 1.770 - SJR, Q1 – SJR, Nature index) Typ: ADCA [IF 5.486]
- [12] (2024) SLÁDEK, V, et al. The Effect of Direct and Water-Mediated Interactions on the Identification of Hotspots in Biomolecular Complexes with Multiple Subsystems. In Journal of Chemical Information and Modeling 2024 (currently under review) (2023: IF 5.622, Q1 – SJR) Typ: ADCA [IF 5.622]

Uplatnenie výsledkov projektu

Uplatnenie výsledkov projektu spočíva v lepšom pochopení úlohy imunomodulačných génov ľudského cytomegalovírusu pri imunitnej odozve. Výhody detailného štúdia týchto vírusových imunoefektínov, ako sú UL141 a UL144, dnes už ďaleko presahujú len skúmanie rozhrania „vírus-hostiteľ“, pretože ich primárna schopnosť efektívne obísť imunitný systém sa dnes považuje za kľúčovú z pohľadu budúceho liečenia rakoviny aj iných autoimunitných ochorení. Tieto poznatky nájdú uplatnenie najmä pri vývoji nových prístupov imunoterapie, pričom niektoré už dosahujú overovanie aj v klinickej praxi.

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

Riešenie projektu prinieslo nové poznatky o molekulárnych mechanizmoch imunitnej odpovedi vyvolanej vírusom HCMV, ktoré významne prispeli k úspešnému naplneniu všetkých definovaných cieľov. Zamerali sme sa na vírusové proteíny, ktoré pôsobia na NK a T bunky a ako tieto fungujú v zdravom aj chorom stave. Hlavným cieľom bolo poskytnúť podrobný obraz o ich molekulárnej architektúre a funkcii, ktoré slúžia ako podklad na molekulárnej úrovni pre racionálny dizajn bioimunoterapeutík, a to sme testovali výpočtovými metódami paralelne s biologickým in vitro experimentom. Podarilo sa nám charakterizovať natívny aj fúzny komplex CD160 s endogénnym aj vírusovým ligandom a presne určiť ich terciárnu štruktúru, flexibilitu a charakter voľných väzobných miest, čím sme odhalili ich možný mechanizmus rozpoznávania na povrchu bunky. Ďalej sa nám podarilo zistiť vplyv PTM na väzbu s imunoreceptormi, kde sme presne určili kinetiku väzby aj glykány, ktoré túto väzbu ovplyvňujú. Množstvo cenných výsledkov sme získali pri meraní interakcie vírusového UL141 s anti-TIGIT, kde sme ako prví dokázali, že UL141 mimikuje toto väzobné miesto a má CD155 signalizáciu na NK bunkách, pričom toto miesto je okupované ekvimolárne. V rámci vývoja nových výpočtových metód k analýze interakcií proteínov sme úspešne aplikovali prepojenie RIN metodológií (NDA, CSV), metódy fragmentácie aminokyselín segmentáciou (FMO-PIEDA) a simulácii molekulovej dynamiky na komplexe UL141-TRAIL-R2 ako aj ďalších modelových systémoch. Kombináciou modelovania, syntézy a biologického testovania sa nám podarilo identifikovať nové látky na báze iminocukrov, ktoré blokujú viazanie TRAIL-R2. Výsledky inhibície výborne korelovali medzi oboma testovanými metódami (in silico aj in vitro) a bez cytotoxických vlastností. Pomocou empirických a kvantovo-mechanických metód molekulového modelovania a cielenej mutačnej a SPR analýzy sme určili väzobné miesto de novo antagonistu na povrchu UL141 a popísali ich párové interakcie a kinetiku. Potenciálne výhody detailného štúdia týchto vírusových imuno-evazínov, dnes už ďaleko presahujú len skúmanie rozhrania „vírus-hostiteľ“, pretože ich primárna schopnosť efektívne obísť imunitný systém sa dnes považuje za kľúčovú z pohľadu budúceho liečenia rakoviny aj iných autoimunitných ochorení.

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

The project brought new insights into the molecular mechanisms of the immune response induced by HCMV, which resulted to the fulfillment of all planned goals. We focused on viral proteins that act on NK and T cells and how they function in both healthy and diseased states. The aim was to provide a detailed picture of their molecular architecture and function and serve as molecular-level blueprint for rational design of bioimmunotherapeutics, and we tested this by computational methods in parallel to biological in vitro experiments. We succeeded to characterize the native and fusion complex of CD160 (with endogenous and viral ligands) and determine their tertiary structure, flexibility of unoccupied binding sites, thereby revealing their possible cell surface recognition mechanism. Furthermore, we managed to determine the effect of PTM on binding to immunoreceptors, where we determined binding kinetics and the specific glycans that affect this binding. We obtained a lot of valuable results when studying the interaction of viral UL141 with anti-TIGIT, while we proved that UL141 mimics this binding site thus disrupts CD155 signaling on NK cells. In the development of new computational methods for protein interaction analysis, we successfully applied the connection of RIN methodologies (NDA, CSV), amino acid fragmentation methods by segmentation (FMO-PIEDA), and molecular dynamics simulation of UL141-TRAIL-R2 complex as well as for other model systems. By combining modeling, synthesis, and biological testing, we succeeded to identify new iminoglycan-based substances that block TRAIL-R2 binding. The results correlated well between tested methods (in silico/ in vitro) while maintaining non-cytotoxic properties. Using empirical and quantum-mechanical methods of molecular modeling and targeted mutational and SPR analysis, we determined binding site of the de novo antagonist on UL141 surface and described paired interactions and kinetics. The potential benefits of studying viral immune evasins extend beyond understanding a key viral-host interface. The unique capacity to bypass the immune system is now considered a defining hallmark of cancer and other autoimmune diseases.