

Záverečná karta projektu

Názov projektu Evidenčné číslo projektu **LPP-0194-09**
Výber manánového epitopu pre prípravu účinnej antifungálnej vakcíny

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Eva Machová, PhD.**

Príjemca **Chemický ústav SAV**

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Chemický ústav SAV
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

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

- 1.
- 2.
- 3.

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

1. Medovarská, I., Bystrický, S., Kossaczka, Z., Machová, E.: Importance of α - and β / α -linked Manno oligosaccharides in Antibody Response against *C. dubliniensis*. Glycoconjugate Journal 27:697-702, 2010
2. Liu, M., Clemons, K.V, Bigos, M., Medovarska, I., Brummer, E., Stevens, D.A. Immune response induced by heat killed *Saccharomyces cerevisiae*: A vaccine against fungal infectionn. Vaccine, 29, 1745-1753, 2011
3. *Candida dubliniensis* mannan as complex of antigenic factors. European Journal of Immunology, Vol.39, S 1/09, 13-16 sept. 2009. Medovarská, R. Škrabana, E. Machová, S.

Bystrický, PD05/10.

4.

5.

Uplatnenie výsledkov projektu

Doterajšie výsledky, získané v rámci riešenia projektu "Výber manánového epitopu pre prípravu účinnej antifungálnej vakcíny" využijeme pri konštruovaní účinnej antifungálnej vakcíny novým spôsobom, t.j. naviazaním nízkomolekulových epitopov na syntetickú maticu a konjugáciou na vybraný proteín.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

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

Projekt bol zameraný na určenie nízkomolekulového manánového epitopu, ktorý by bol najvhodnejší na skonštruovanie účinného antifungálneho glykokonjugátu. Vychádzali sme z doterajších poznatkov nášho pracoviska, ktoré sa dlhodobo zaoberá štúdiom štruktúry kvasinkových manánov, a prípravou subcelulárnych glykokonjugátov. Naše doterajšie poznatky sa týkali imunomodulačných vlastností glykokonjugátu, v ktorom bol zabudovaný polymérny manán ako epitop. Keďže našou snahou je navrhnúť glykokonjugát s manooligomérnym epitopom s definovanou štruktúrou, zamerali sme sa na jeho výber spomedzi oligomérov z natívneho manánu. Chemickými postupmi sme pripravili a charakterizovali manooligoméry v dostatočnom množstve. Na stanovenie väzobných afínít manooligomérov k manán-špecifickým IgG protilátkam sme použili polyklonové králičie sérum, ktoré sme získali imunizáciou manán-HSA konjugátom, aj celými bunkami *C. dubliniensis*. Interakcie manooligomér-antimanánové IgG protilátky sme sledovali dvomi spôsobmi, inhibičnou ELISA metódou a metódou rezonancie povrchového plazmónu (SPR). Zistili sme, že najdlhšie manooligoméry (hexa- až oktamér) mali najvyššiu afinitu k spomínaným protilátkam. IC₅₀ oktaméru boli 100-násobne nižšie ako u diméru. Významným výsledkom bolo zistenie, že chemickými postupmi sa štruktúra manánového epitopu nezmenila, pretože odozva konjugátových, ako aj celobunkových post-imunizačných sér na manooligoméry bola rovnaká. Optimalizovali sme experimentálne podmienky pre sledovanie interakcií manán-antimanánové IgG protilátky SPR metódou a vypočítali predbežné asociačné a disociačné konštanty. Tieto podmienky budeme aplikovať aj na sledovanie interakcií manooligomér-antimanánové IgG protilátky.

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

The aim of project was determination of low-molecular mannan epitop, the most suitable for construction of effective antifungal glycoconjugate. We used the results of our laboratory concerning the structure of yeast mannans and preparation of glycoconjugates. Up now we studied the immunomodulatory properties of glycoconjugates with polymer mannan as epitop. Because the aim of project is proposal of glycoconjugate with structurally defined manooligomer as epitop, we targeted the selection of epitop from native polymer mannan. Using various chemical methods, we prepared and characterized the sufficient amounts of oligomers. For determination of binding affinities of manooligomers to mannan-specific IgG antibodies the polyclonal rabbit sera obtained after immunization with mannan-HSA-conjugate and whole cells *C. dubliniensis* were used. The interactions were studied by inhibition ELISA method and surface plasmon resonance (SPR) method. The longest oligomers (hexa- and octamer) showed the most high affinity to mannan-specific IgG antibodies. IC₅₀ of octamer was 100-fold lower than for dimer. *C. dubliniensis* mannan in the form of the conjugate retained the antigenic properties of the mannan moiety exposed on the yeast cell surface and induced qualitatively similar antibodies to those elicited by *C. dubliniensis* suspension. We

optimized the experimental conditions for study of mannan-mannan specific IgG antibodies interactions by SPR method and calculated the association and dissociation constants. The obtained results will be applied for study of mannoooligomer- mannan specific IgG interactions.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

RNDr. Eva Machová, PhD.

V Bratislave 29.10.2011

Štatutárny zástupca príjemcu

Ing. Miroslav Koóš, DrSc.

V Bratislave 29.10.2011

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu