

Stimuly pre výskum a vývoj

**Proteomická analýza kmeňov ľudského papilomavírusu,
indukujúcich karcinóm krčka maternice, kolorektálny a
orofaryngický karcinóm**

1. Základné informácie o projekte

Názov projektu:	Proteomická analýza kmeňov ľudského papilomavírusu, indukujúcich karcinóm krčka maternice, kolorektálny a orofaryngický karcinóm
Druh projekt:	Základný výskum
Evidenčné číslo projektu:	2018/14589:8-26C0
Poskytovateľ stimulov:	Ministerstvo školstva, vedy, výskumu a športu SR
Riešiteľ:	FUTÚRUM, spoločnosť s ručením obmedzeným Michalovce, námestie Osloboditeľov 70, 071 01 Michalovce
Spoluriešiteľ:	DB Biotech, a.s., Popradská 80, 040 11 Košice
Zodpovedný riešiteľ:	MUDr. Jozef Bodnár
Doba riešenia projektu:	36 mesiacov (12/2018 – 11/2021)
Vytvorenie/udržanie pracovných miest:	5/6

Riešenie projektu za rok 2019:

Nové a presnejšie diagnostické postupy sú v dnešnej klinickej patológii základom komplexnej, personalizovanej medicíny a preventívnej diagnostiky. Od tohto sa odvíja návrh prevencie šírenia ochorenia, prípadne presnej a účinnej liečby. Veľký nárast malígnych ochorení krčka maternice u žien, karcinómov konečníka, ústnej dutiny a hrdla u žien aj mužov je alarmujúci. Je preukázané, že indukciou týchto malígnych ochorení je infekcia nielen HPV (human papilloma virus), ale aj paralelné infekcie chlamýdiami alebo mykoplazmou, oslabujúce spoločne bunkovú imunitu. Kombináciou virálnych protoonkogénov a bakteriálnych toxínov, dochádza k indukcii a intenzívnemu rozvoju nádorového ochorenia s často fatálnymi následkami. Charakterizácia odpovedajúceho proteomu, produkcia vysoko-špecifických protilátok voči týmto proteínovým markerom a ich využitie pre zostavenie citlivých, vysoko špecifických diagnostických kitov, ale aj presnej biologickej liečby, je predmetom tohto projektu. Samozrejme, s priamou transláciou do klinickej medicínskej praxe, a to nielen na Slovensku, ale do celého sveta.

Uvedený projekt základného výskumu je zameraný na identifikáciu jednotlivých kmeňov HPV pri vzniku rakovinového ochorenia. V súvislosti s prítomnosťou onkogénneho kmeňa HPV ide v projekte v ďalšom kroku o popis mechanizmov odpovedajúcich signálnych dráh, za účasti endogénnych proteínov infikovanej bunky, kde sa zameriavame na selektované proteíny regulujúce transkripčné procesy, ale aj na proteíny regulujúce komunikáciu proteínov v cytoplazme, v procese rozvoja ochorenia. Výstupom riešenia vedeckých úloh budú nové originálne proteíny aplikovateľné pri presnej a citlivej diagnostike HPV infekcií, s možným prínosom pre molekulárnu, veľmi špecifickú liečbu týchto infekcií, a to už v latentnom štádiu, ešte pred tým, než dôjde k rakovinovému aktívnemu procesu. Translačný potenciál – prenos výstupov výskumu do medicínskej klinickej praxe je v tomto projekte veľmi veľký, na čo sa bude klásť hlavný dôraz po skončení obdobia venovaného riešeniu výskumných úloh. Dôraz je tu kladený na personalizovanú diagnostiku, prevenciu, aj vývoj prípadnej liečby HPV infekcií.

Cieľom prvej etapy riešenia výskumného projektu v roku 2019 bolo vyselektovanie epitopálnych sekvencií kmeňov HPV pre vývoj monošpecifických protilátok, identifikujúcich jednotlivé cieľové kmene vírusu, ktoré sú asociované s nádorovými ochoreniami cervixu, kolorektálnymi a orofaryngickými karcinómami. Jednotlivé epitopálne sekvencie sú selektované tak, aby boli aplikovateľné aj pre následné štúdie interakcií vírusu s protoonkogénmi, ale aj ďalšími kľúčovými proteínmi infikovaných buniek, ktorých úloha pri HPV replikácii a regulácii špecifických signálnych dráh v malígnych bunkách nie je detailne popísaná. Intracelulárny proteín GTP-áza *ras* je silne asociovaný s reguláciou replikácie DNA v bunkách človeka. Ľudský homológ virálneho protoonkogénu *v-fos*, *c-fos*, je ďalším cieľovým proteínom, ktorého špecifické interakcie s kmeňmi HPV sú predmetom uvedeného výskumu. Celkovo bolo dizajnovaných a produkovaných 10 monošpecifických klonálnych, originálnych protilátok, detekujúcich onkogénne, najagresívnejšie kmene HPV – 16 a 18, ktoré sú asociované so všetkými malígnymi formami HPV-asociovaných nádorov. Ďalšie monošpecifické protilátky identifikujú pro-onkogénne kmene HPV – 31, 33, 35, 39, 51, 52, 58. Voči endogénnym proteínom infikovaných buniek, ktoré zohrávajú pri HPV infekciách kľúčové úlohy – či už

**FUTÚRUM, spoločnosť s ručením obmedzeným Michalovce,
námestie Osloboditeľov 70, 071 01 Michalovce, IČO: 31 716 296**

podporujúce následky transformačného potenciálu infekcie (cFos), alebo inhibičné signálne dráhy vírusovej replikácie (GTP-áza *ras*), boli dizajnované a produkované 2 protilátky, pre ich špecifickú detekciu pri štúdiu ich signálnych dráh v procese vírusovej infekcie cieľových buniek. Pre pozitívnu kontrolu HPV infekcie buniek sme pre imunohistochemické aplikácie pripravili monoklonálnu myšaciu proteilátku anti-p16, ktorá bude aplikovaná pri duálnych imunohistochemických štúdiách nových králičích protilátok voči jednotlivým kmeňom HPV.

Výsledky výskumu za rok 2019 dávajú všetky predpoklady pre naplnenie výskumných úloh v ďalšom roku.