

Streszczenie popularno-naukowe

Pomimo masowych programów szczepień, wirus zapalenia wątroby typu B (HBV) pozostaje główną przyczyną chorób wątroby. Szacuje się, że 2 miliardy ludzi na całym świecie cierpi na wirusowe zapalenie wątroby typu B, w tym ponad 250 milionów cierpi na przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu B (CHB), a 600 tysięcy pacjentów umiera rocznie z powodu powikłań zapalenia wątroby, głównie w krajach rozwijających się. Dlatego **szczególnie pożądane są** bardziej skuteczne, ale jednocześnie ekonomicznie wydajne i powszechnie dostępne szczepionki profilaktyczne oraz **szczepionki terapeutyczne przeciw CHB**.

Powszechnie stosowane są szczepionki profilaktyczne drugiej generacji oparte są na produkowanym w drożdżach małym antygenie powierzchniowym (S-HBsAg). Bardziej skuteczne są szczepionki trzeciej generacji zawierające również średni i/lub duży antygen powierzchniowy (M/L-HBsAg). Są one jednak wytwarzane w kosztownych liniach komórkach ssaków, dlatego ich użycie jest ograniczone. Głównym składnikiem testowanych szczepionek do terapii CHB jest **antygen rdzeniowy (HBcAg), indukujący silną odpowiedź typu Th1 - tj. gł. komórkową, którą można uzupełnić podjednostkami HBsAg lub ich immunodominującymi domenami - induktorami odpowiedzi typu Th2, tj. humoralnej**. Cząstki wirusopodobne (ang. Virus-Like Particles, VLPs) oparte na HBcAg są dobrze scharakteryzowanymi potencjalnymi nośnikami szczepionek o wysoce uporządkowanej strukturze. Antygeny lub ich fragmenty (epitopy) umieszczone na powierzchni tych VLPs są zatem również efektywnie prezentowane wobec układu immunologicznego.

Złożone w VLPs antygeny wytwarzane w roślinach, są uważane za alternatywne szczepionki, ze względu na niski koszt, bezpieczeństwo biologiczne, bioaktywność i możliwość doustnej immunizacji. Immunogenność S-HBsAg lub HBcAg pochodzenia roślinnego została już wykazana. Oba antygeny, aplikowane w immunizacji iniekcyjnej lub na drodze iniekcyjno-doustnej, indukowały znaczącą odpowiedź immunologiczną o właściwej polaryzacji. **Wyniki te wskazują, że kluczowe epitopy obu antygenów, połączone w jednym typie chimerycznych VLPs, mogą indukować odpowiedź immunologiczną o mieszanej polaryzacji Th1/Th2, wymaganą do terapii CHB**. Konieczne są jednak badania nad wytwarzaniem, jak i immunogennością chimerycznych VLP pochodzenia roślinnego. Chociaż ekspresja HBcAg była wydajna, składowanie chimerycznych VLPs opartych na HBcAg jest wciąż w fazie wstępnej.

Głównym celem projektu jest opracowanie i określenie immunogenności nowych rodzajów chimerycznych VLPs - utworzonych z roślinnego HBcAg prezentującego kluczowe epitopy HBsAg: aSHB i ΔpreS1, a także Motywu TransLokacji (ang. TransLocation Motif, TLM) - zwiększającego przenikanie VLPs do komórek i ich immunogenność. W szczególności - projekt ma na celu wyjaśnienie wzajemnego wpływu epitopów HBcAg i HBsAg, oraz wpływu TLM i mozaikowej struktury VLPs na efektywność i rodzaj wywołanej odpowiedzi immunologicznej.

Projekt będzie realizowany w **kolejnych etapach**:

- Uzyskanie spektrum VLP dwóch typów: „monoantygenowych” - złożonych wyłącznie z jednego rodzaju podjednostek, tj. HBcAg z przyłączonym epitopem aSHBs lub ΔpreS1, oraz 2) mozaikowych - złożoną z niezmienionych cząsteczek HBcAg i HBsAg z epitopem, przy czym oba typy cząstek będą w podwariantach z TLM.
- Ekspresja VLPs w roślinach *Nicotiana benthamiana* metodą ekspresji przejściowej. Ten system ekspresji charakteryzuje: 1) wysoki poziom ekspresji białka z możliwością wytwarzania heteromultimerycznych VLPs, 2) łatwa skalowalność i niski koszt, 3) szybki czas ekspresji, 4) bezpieczeństwo biologiczne otrzymanych preparatów.
- Oczyszczanie i oznaczenie poziomu produkcji VLPs, wraz z ich kompleksową analizą strukturalną
- Określenie immunogenności chimerycznych VLPs w badaniach na zwierzętach (myszy C57BL/6). Kompleksowa charakterystyka humoralnej i komórkowej odpowiedzi immunologicznej obejmująca: oznaczenie przeciwciał w surowicy; krążących białych krwinek; określenie subpopulacji splenocytów i produkcji cytokin, umożliwi ocenę proporcji polaryzacji Th1 i Th2.

Zoptymalizowane wytwarzanie chimerycznych VLPs wraz z określeniem rodzaju odpowiedzi immunologicznej dostarczy nowych danych na temat oddziaływania różnych rodzajów epitopów, a także będzie mieć potencjalne implikacje dla **immunologii, profilaktyki, terapii, innych zastosowań medycznych** i biotechnologii roślin. Wyniki projektu będą stanowić niezbędną podstawę badań nad dalszym rozwojem szczepionek i ich efektów terapeutycznymi w wątrobie i całym organizmie u transgenicznym myszy z CHB, a następnie u pacjentów z CHB i perspektywnie - **przyszłych terapii CHB**.