

Rekombinowane przetrwalniki *Bacillus subtilis* prezentujące na powierzchni fragment białka FliD *Clostridioides difficile* połączony z peptydem VQGEESNDK

Frankowska N¹, Potocki W¹, Negri A¹, Peszyńska-Sularz G², Hinc K¹, Obuchowski M¹
Iwanicki A¹

¹Gdański Uniwersytet Medyczny, Gdańsk

²Trójmiejska Akademińska Zwierzętarnia Doświadczalna, Gdańsk

Wstęp

Jednym z najciekawszych zastosowań technologii prezentacji heterologicznych białek na powierzchni przetrwalników *Bacillus subtilis* jest zastosowanie ich jako nośników antygenów w szczepionkach śluzówkowych. Szczepionki śluzówkowe, pomimo wielu potencjalnych zalet w stosunku do szczepionek iniekcyjnych (takich jak brak konieczności wstrzyknięcia, a tym samym brak ryzyka przenoszenia chorób krwiopochodnych oraz łatwy sposób podania), są znacznie mniej powszechne. Większość rozpuszczalnych antygenów białkowych wprowadzanych drogą śluzówkową jest słabo immunogenna i indukuje specyficzną, długotrwałą tolerancję. Ponadto problemy z szybką degradacją antygeny na powierzchni błony śluzowej oraz brak odpowiednich adiuwantów śluzówkowych przyczyniają się do zmniejszenia ich przydatności. Technologia prezentacji heterologicznych białek na powierzchni przetrwalników wydaje się być remedium na niektóre z tych wad.

Materiały i metody

W naszych badaniach z powodzeniem zaprojektowaliśmy i skonstruowaliśmy rekombinowane przetrwalniki prezentujące chimeryczne białko antygen/adjuwant. Jako antygen wykorzystaliśmy immunogeny fragment białka czapeczki wici *Clostridioides difficile* FliD, a jako adjuwant peptyd VQGEESNDK, fragment ludzkiej IL-1 β . Obecność fuzyjnego białka na powierzchni spor potwierdzono za pomocą analizy western blot oraz mikroskopii immunofluorescencyjnej.

Wyniki

Rekombinowane przetrwalniki prezentujące na powierzchni FliD/IL-1 β były w stanie wywołać odpowiedź immunologiczną u myszy immunizowanych doustnie, którą można było ocenić przez wykrycie przeciwciał IgA swoistych dla FliD w kale immunizowanych zwierząt. Ponadto obecność fragmentu IL-1 β znacząco zmieniała charakterystykę wywołanej odpowiedzi immunologicznej. Analizując za pomocą cytometrii przepływowej profil cytokin wydzielanych przez stymulowane antygenem splenocyty wykazano wzrost produkcji IL-2, IL-4, IL-6, IL-17A, TNF- α i IFN- γ w grupie myszy immunizowanych przetrwalnikami prezentującymi białko chimeryczne antygen/adjuwant.

Podsumowanie

Podsumowując, nasze badania udowodniły, że możliwa jest skuteczna ekspozycja chimerycznego białka antygen/adjuwant na powierzchni rekombinowanych przetrwalników bakteryjnych. Ponadto wykazaliśmy, że rekombinowane przetrwalniki wywoływały odpowiedź immunologiczną, która była modulowana przez obecność fragmentu IL-1 β (VQGEESNDK). Sądzymy, że przetrwalniki prezentujące na powierzchni FliD/IL-1 β mogą zostać użyte jako doustna szczepionka przeciwko zakażeniom *Clostridioides difficile*.

Badania były finansowane z grantu Homing (HOMING PLUS/2010-2/3 oraz z programu Lider (LIDER/14/21/L-2/10/NCBiR/2011).