

Streszczenie pracy doktorskiej mgr Anny Dobrut pt.: „Badania nad epitopami immunogennych białek *Streptococcus agalactiae* rozpoznawanymi przez przeciwciała ochronne krwi pępowinowej”

Streptococcus agalactiae (ang. group B Streptococci, GBS) jest oportunistycznym patogenem kolonizujących przewód pokarmowy i drogi rodne kobiet. Bakteria ta może jednak wywoływać zagrażające życiu zakażenia u noworodków. Wprowadzone w latach sześćdziesiątych XX wieku badania przesiewowe w kierunku GBS, którym poddawane są ciężarne kobiety będące w 35-37 tygodniu ciąży przyczyniły się wprawdzie do obniżenia śmiertelności wśród niemowląt, jednakże problem zakażeń o późnym początku, jak również u osób dorosłych wciąż istnieje. Ponadto, okołoporodowa profilaktyka antybiotykowa będąca następstwem badań przesiewowych przyczynia się do ekspansji niekorzystnego zjawiska, jakim jest oporność bakterii na antybiotyki. Dlatego też, przed naukowcami stoi ogromne wyzwanie, jakim jest opracowanie alternatywnej metody walki z tym drobnoustrojem, a za taką uważa się innowacyjną szczepionkę opartą na immunogennych białkach i/lub ich epitopach.

Celem niniejszej pracy była identyfikacja, charakterystyka oraz chemiczna synteza epitopów wybranych immunogennych białek *Streptococcus agalactiae* (GBS) rozpoznawanych przez ludzkie przeciwciała ochronne obecne w krwi.

Badaniem objęto trzy konserwatywne, specyficzne i immunogenne białka GBS: enolazę, dehydrogenazę 5'-monofosforanu inozyiny oraz białko opiekuńcze GroEL, które wybrane zostały przy zastosowaniu immunoblottingu w obecności surowic GBS-dodatnich i GBS-ujemnych. W wyniku analizy bioinformatycznej obejmującej predykcję najbardziej prawdopodobnych epitopów dla każdego z białek wytypowano kolejno: 32 sekwencje dla enolazy, 36 sekwencje dla dehydrogenazy 5'-monofosforanu inozyiny i 41 sekwencji dla chaperonu GroEL. Peptydy te syntetyzowano na polietylenowych pinach przy zastosowaniu metody Pepscan, a ich reaktywność i specyficzność oceniano w teście immunoenzymatycznych w obecności surowic krwi pępowinowych pochodzących zarówno od nosicielek, jak i kobiet niebędących nosicielkami. Następnie wybrane epitopy poddawano modyfikacjom poprzez skracanie i podstawianie alaniną i/lub glicyną, co miało na celu detekcję najkrótszej i najsilniej reagującej determinanty antygenowej. Wybrane epitopy syntetyzowano także na żywicy metodą Fmoc. Epitopy te badane były w obecności surowic krwi żylnych pochodzących od pacjentek z trwającym zakażeniem o etiologii GBS, nosicielek GBS oraz ciężarnych niebędących nosicielkami tej bakterii. Ponadto, w niniejszej pracy

porównywano także reaktywność immunogennego białka GBS, jakim był czynnik elongacji Tu i jego epitopów.

W rezultacie zidentyfikowano dziesięć wysoce specyficznych epitopów, z czego dwa: ⁹¹MIALDGTPNKG¹⁰¹ i ¹¹⁷RAAADYLEVPLYSYLG¹³¹ reprezentatywne były dla enolazy, jeden epitop ²⁹⁹VVKVGIGPGSIC³¹⁰ wytypowany został dla dehydrogenazy 5'-monofosforanu inozyny, podczas gdy dla chaperonu GroEL zidentyfikowano aż 7 epitopów, a ich sekwencje były następujące: ⁴³FGSPLITN⁵⁰, ³⁶²KLQE³⁶⁵, ³⁷¹AGGVA³⁷⁵, ³⁸¹AATET³⁸⁵, ⁴⁸⁵MVTTGIIDPVK⁴⁹⁵, ⁴⁹⁶VTRSALQNA⁵⁰⁴ oraz ⁵⁰⁵SVASLILTTE⁵¹⁵. Ponadto, wykazano, że epitopy reagowały z przeciwciałami silniej niż całe białko, a także umożliwiały różnicowanie zakażenia wywołanego przez GBS od nosicielstwa tej bakterii, co wskazuje, że w przyszłości będą mogły znaleźć zastosowanie jako antygenowe markery w teście immunodiagnostycznym. Co więcej, ze względu na swoje właściwości immunogenne mogą być rozważane jako komponent innowacyjnej szczepionki przeciwko temu drobnoustrojowi, przyczyniając się tym samym do profilaktyki zakażeń GBS w populacji, co bez wątpienia wymaga dalszych szczegółowych badań.