

## Összefoglaló

A *Chlamydomphila pneumoniae* obligát intracelluláris humán kórokozó. A *C. pneumoniae* fertőzések világszerte nagyon gyakoriak, fiatal felnőttek 50%-ában mutatható ki antitest. Ez az arány idős korra eléri a 75%-ot. Gyakori kórokozója a pneumóniának, bronchitisnek, pharingitisnek és sinusitisnek. Az elmúlt évek kutatásainak eredménye alapján feltételezik, hogy a *C. pneumoniae* fertőzés hozzájárul az atherosclerosis, az asthma bronchiale, az Alzheimer-kór és a multiplex sclerosis kórképek kialakulásához. A fertőzés antibiotikus terápiája nem mindig eredményes, ezért a fertőzések kontrollálására legalkalmasabb mód a vakcinálás lenne. *C. pneumoniae* vakcina kidolgozása még nem történt meg. Ezért célul tűztük ki a lehetséges vakcina komponensek vizsgálatát és az általuk kiváltott immunválasz jellemzését.

A *C. pneumoniae* hármas típusú szekréciós rendszerrel (TTSS) rendelkezik, mely lehetővé teszi a baktérium számára, hogy effektor fehérjéket juttasson a fertőzött sejt citoplazmájába. Ez a rendszer a *Chlamydia* replikatív ciklusának intracelluláris fázisában aktív. Az LcrE azaz a Low calcium response E és LcrH fehérjék a TTSS tagjai. Az LcrE fehérje a TTSS negatív regulátora. Az elementáris testek felszínén kimutatható, az ellenanyagok számára hozzáférhető. Az LcrH a TTSS-rendszer egyik dajka fehérjéje, mely a fejlődési ciklus középső és kései szakaszában fejeződik ki. Az LcrE és LcrH fehérjék génjét PCR-rel amplifikáltuk *C. pneumoniae* (CWL029) DNS-ből, majd prokaryota expressziós vektorba klónoztuk. A 6His-tag-gel ellátott fehérjéket *Escherichia coli*-ban kifejeztettük. A fehérjéket a baktérium lysatumából HIS-select TALON CellThru Resin segítségével tisztítottuk.

Az LcrE fehérje immunogenitásának fokozása céljából kétféle adjuvánst teszteltünk. Az első az Alum adjuvans, melyet a humán gyógyászatban régóta alkalmaznak. A második az igen hatásos, Freund adjuvans, mely emberi alkalmazása nem engedélyezett káros mellékhatásai miatt. Mind az LcrE-Alum, mind a LcrE-Freund kombinációval végzett immunizálás erős humorális immunválaszt indukált egerekben, magas LcrE-specifikus IgG titerrel, kevert Th1/Th2 válaszra utaló IgG izotípus összetétellel. LcrE-specifikus IgA kimutatása a tüdőben mucosalis immunválasz kiváltására utalt. A celluláris immunválasz indukcióját a lépsejtek LcrE-specifikus proliferációja és az IFN- $\gamma$  termelő sejtek számának megnövekedése mutatta. A celluláris immunválaszt a CD4+ T sejtek közvetítették elsősorban, ám az LcrE-Freund immunizálás a cytotoxikus CD8+ sejteket is stimulálta. Mind az LcrE-Alum, mind a LcrE-Freund kombináció alkalmazása jelentős mértékben gátolta a *C. pneumoniae* szaporodását az *in vivo* kísérleteinkben.

Mindezek alapján elmondhatjuk, hogy az LcrE fehérje megfelelő komponense lehet egy *C. pneumoniae* elleni több alegységes védőoltásnak. A kétféle adjuváns alkalmazásával kiváltott immunválaszban megfigyelt különbségek ellenére a protekció mértéke hasonló volt. Ezek alapján az Alum adjuvánssal történő immunizálás alkalmas lehet protektív antigének tesztelésére.

Az LcrH fehérje immunogenitását és védő hatását Freund adjuvánssal keverve vizsgáltuk egerekben. Az immunizálás LcrH-specifikus IgG termelést eredményezett, de jelentős *C. pneumoniae* hozam redukcióhoz nem vezetett.

A *Mycobacterium smegmatis* gyorsan nöövő szaprofita baktérium számos olyan előnyös tulajdonsággal, mely hatékony vakcina vektorrá teszi. Különböző kórokozók antigénjeit illetve immunmoduláló molekulákat kifejező rekombináns *M. smegmatis*-ok segítségével lehetőség nyílt számos fertőző betegség befolyásolására állatkísérletekben, így pl: TBC, HIV és a hepatitis B. Vizsgáltuk a *M. smegmatis Chlamydia* fehérjét kifejező vektorként történő alkalmazását. Ezért tanulmányoztuk homológ és heterológ fehérjék kifejeződését rekombináns *M. smegmatis*-ban.