

Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV) staje się coraz **poważniejszym problemem zdrowia publicznego, zwłaszcza w Polsce oraz innych częściach Europy i Azji, gdzie liczba zgłaszanych przypadków systematycznie rośnie**. Ten neurotropowy flawiwirus jest przenoszony głównie przez kleszcze i może powodować ciężkie, a niekiedy śmiertelne zakażenia układu nerwowego. **Obecnie nie istnieją leki przeciwwirusowe skuteczne w leczeniu zakażeń TBEV, dlatego najskuteczniejszą formą ochrony pozostaje profilaktyczne szczepienie**. Mimo dostępności tradycyjnych szczepionek inaktywowanych, wciąż występują wyzwania takie jak niepełna ochrona czy skomplikowane schematy immunizacji. W związku z tym rozwój nowych, ulepszonych platform szczepionkowych jest niezbędny, by poprawić ochronę wśród populacji i kontrolować rozprzestrzenianie się tego patogenu.

Cząstka TBEV składa się głównie z białek strukturalnych prM i E, które tworzą osłonkę wirusa i stanowią cel dla przeciwciał neutralizujących. Nowoczesne podejścia do szczepień skupiają się na imitowaniu naturalnej struktury wirusa, by wywołać silną i specyficzną odpowiedź immunologiczną. Cząstki wirusopodobne (VLPs), które swoją strukturą imitują wirusa, ale nie zawierają materiału genetycznego, w sposób bezpieczny prezentują antygeny wirusa w ich naturalnej konformacji. Podobnie, syntetyczne szczepionki mRNA kodujące białka prM i E wykazują duży potencjał dzięki zdolności do indukowania silnej odpowiedzi humoralnej i komórkowej. **Głównym celem tego projektu jest ocena profilu immunogenności dwóch zaawansowanych form antygenów TBEV: VLPs eksponujących glikoproteinę E w formie kowalencyjnie związanego dimeru oraz syntetycznego mRNA kodującego sekwencję prME. Szczególny nacisk położony zostanie na ocenę jakości, siły oraz charakteru odpowiedzi immunologicznej indukowanej przez te antygeny.** W kolejnym etapie analizie poddany zostanie wpływ zastosowania tych antygenów w schemacie heterologicznego szczepienia typu „prime-boost”, ponieważ takie podejścia wykazały wzmocnioną i bardziej zróżnicowaną odpowiedź immunologiczną w kontekście innych zakażeń wirusowych. Wprowadzenie mutacji dimerycznej w białku E ma na celu stabilizację dojrzałej konformacji antygeny, co może przełożyć się na poprawę jego właściwości immunogennych i ochronnych.

Badania podzielono na trzy powiązane etapy. **Na początku zostaną zaprojektowane konstrukty kodujące zarówno dzikie, jak i zmutowane formy białek prM i E, co umożliwi produkcję syntetycznego mRNA.** mRNA wyprodukowane *in vitro* i poddane kapowaniu zostanie przetestowane pod kątem efektywności ekspresji w ludzkich i mysich liniach komórkowych, istotnych dla rozwoju szczepionek i odpowiedzi immunologicznej. **W kolejnym etapie projekt skoncentruje się na produkcji i oczyszczeniu zaprojektowanych antygenów w dwóch formach: mRNA oraz zmodyfikowanych VLP** produkowanych w komórkach ssaczych Expi293F, które pozwalają na skalowalną produkcję odpowiednio glikozylowanych cząstek imitujących wirusa. Metody oczyszczania, takie jak ultrawirowanie i chromatografia, zapewnią wysoką jakość obu antygenów, odpowiednią do zastosowania w badaniach na zwierzętach. **W ostatnim etapie immunogenność zaproponowanych antygenów zostanie oceniona przy użyciu zaawansowanych testów immunologicznych określających odpowiedź przeciwciał, aktywację limfocytów T oraz poziom neutralizacji wirusa.** Heterologiczny schemat „prime-boost” łączący mRNA i VLP zostanie przetestowany w celu optymalizacji odpowiedzi immunologicznej. Do dostarczania mRNA zastosowane zostaną nowoczesne formułacje lipidowych nanocząstek, natomiast skuteczność antygeny w postaci VLP zwiększą adiuwanty o udowodnionym działaniu.

Realizacja tego projektu powinna dostarczyć cennych informacji na temat opracowywania i skuteczności szczepionek nowej generacji przeciwko TBEV. Wykorzystanie w badaniach najnowszych technologii szczepionkowych – mRNA oraz VLP – pozwoli na realizację celu jakim jest zbadanie odpowiedzi immunologicznej wywoływanej przez te antygeny oraz ocenę wpływu ich zastosowania w heterologicznym schemacie szczepienia typu „prime-boost” na charakter generowanej odpowiedzi immunologicznej, co ma szczególne znaczenie w kontekście skutecznej kontroli TBEV. Przewiduje się, że połączenie antygenów opartych na mRNA i VLP będzie w stanie pobudzić zarówno odporność humoralną, jak i komórkową, prowadząc do bardziej zrównoważonej i silniejszej odpowiedzi niż ta, uzyskiwana przy stosowaniu jednego typu antygeny. **Wyniki projektu nie tylko przyczynią się do opracowania skutecznej i bezpiecznej szczepionki przeciwko TBEV, ale mogą także wspomóc rozwój strategii szczepień przeciwko innym, pokrewnym flawiwirusom.**