

Lentiwirusy zwierząt stały się interesującym modelem do badań nad mechanizmami przekroczenia bariery gatunkowej oraz ich przystosowania się do nowego gospodarza, a także zjawiska powstawania nowych form tych patogenów tzw. *emerging pathogens*. Analiza lentiwirusów ludzi HIV-1 i HIV-2 jasno wykazała, że epidemia tych zakażeń jest wynikiem pokonania bariery gatunkowej pomiędzy małpą a człowiekiem. O zjawisku przekraczania bariery międzygatunkowej mówi się wtedy, gdy dany patogen wywołuje zakażenie w organizmie nowego gospodarza należącego do innego gatunku. Co więcej, gdy zakażenie takie wywołuje chorobę u nowego gospodarza, mamy do czynienia z tzw. *emerging disease*. AIDS u ludzi jest najbardziej znanym przykładem takiej choroby. Wirus zapalenia stawów i mózgu kóz (*CAEV - caprine arthritis-encephalitis virus*) oraz wirus choroby *maedi visna* (*MVV*) u owiec należą do rodzaju *Lentivirus* rodziny *Retroviridae*. Naturalnym gospodarzem dla CAEV są kozy, zaś dla MVV owce. Badania serologiczne przeprowadzone w Polsce wykazały, że odsetek stad z odczynami dodatnimi wynosił 44-58% dla stad owiec i 30-72%, dla stad kóz (Olech i wsp. 2012, Kaba i wsp. 2013). Możliwość pokonywania przez te wirusy bariery gatunkowej sprawiła, że nie są one uważane za gatunkowo specyficzne i określa się je jako lentiwirusy małych przeżuwaczy (*SRLV-small ruminant lentiviruses*). Wśród SRLV wyróżnia się 5 grup genetycznych A-E (Bertolotti i wsp. 2011, Shah i wsp. 2004, Kuhar i wsp., 2012). Ostatnio opublikowane dane wykazały, że w Polsce zjawisko przekraczania bariery gatunkowej przez SRLV występuje w warunkach naturalnych. Wykazano, że lentiwirusy izolowane od owiec i kóz z Polski są zróżnicowane i należą do podtypu A1, B1, B2 oraz do dwóch nowych podtypów A12 i A13, które reprezentują wyłącznie wirusy izolowane z Polski (Olech i wsp. 2012). Skutkiem pokonania bariery gatunkowej i adaptacji lentiwirusa do organizmu nowego gospodarza może być powstawanie nowych form wirusa, o nowych cechach biologicznych i zmienionej patogenności. Celem niniejszego projektu jest izolacja i poznanie cech biologicznych i molekularnych wariantów SRLV, będących rezultatem przekraczania bariery gatunkowej i adaptacji do nowego gospodarza. Dlatego uwaga będzie skupiona na stadach mieszanych owce/kozy, gdzie zjawisko wzajemnego zakażenia heterologicznych gospodarzy jest najbardziej prawdopodobne. Łatwość z jaką SRLV pokonują barierę gatunkową i adaptują się do nowego gospodarza może skutkować również przeniesieniem zakażenia na inne wrażliwe przeżuwacze. Dlatego w badaniach uwzględnione zostaną krowy ze stad mieszanych kozy/owce/bydło oraz wolno żyjące przeżuwacze (sarny, jelenie, danielę), mające kontakt z małymi przeżuwaczami poprzez wykorzystanie wspólnych pastwisk. Wśród zwierząt pochodzących z tych stad zostaną przeprowadzone badania serologiczne w kierunku SRLV. Od zwierząt seropozytywnych zostanie pobrana krew w celu otrzymania leukocytów krwi obwodowej i izolacji DNA. DNA przeznaczone będzie do badań molekularnych w oparciu o amplifikację fragmentu genu *env* oraz regionu LTR prowirusa. W celu określenia liczby kopii prowirusowego DNA u osobników zakażonych zidentyfikowanymi wariantami wirusów, zastosowana zostanie metoda qPCR. Ponadto u izolatów, u których zostaną zidentyfikowane mutacje w obrębie regionu LTR zostanie oszacowana aktywność promotora LTR przy wykorzystaniu cytometrii przepływowej. Jednocześnie od wyselekcjonowanych zwierząt zostanie pobrana krew w celu otrzymania komórek jednojądrzastych i hodowli makrofagów – *monocyte derived macrophages* (MDM) dla potwierdzenia replikacji wirusa (metoda SG-PERT) i oceny jego cech biologicznych (obserwacja mikroskopowa na obecność syncytiów, mianowanie wirusa). W badaniach dotyczących możliwego zoonotycznego oddziaływania SRLV wykazano obecność swoistych przeciwciał i fragmentu genomu SRLV u osób spożywających w sposób ciągły mleko zakażonych kóz (Tereso et al., 2009). Wykazano także, że w warunkach *in vitro* komórki pochodzenia ludzkiego zdolne są do produktywnego zakażenia SRLV, po transfekcji infekcyjnym klonem molekularnym (Mselli-Lakhal i wsp. 2000), toteż w projekcie określona zostanie także możliwość zakażenia komórek ludzkich (HeLa, SiHa, CasKi, HCT116, U937, Jurkat) i różnych gatunków zwierząt (kóz (GSM), owiec (PO), bydła (BOMac)) przez wybrane izolaty SRLV wykazujące istotne zmiany w sekwencji nukleotydowej oraz posiadające zmienione cechy biologiczne w celu określenia tropizmu komórkowego tych wirusów, w warunkach *in vitro*. Oceniona zostanie korelacja pomiędzy genotypem izolatów SRLV, ich cechami biologicznymi *in vitro* i *in vivo*.