

POPULARNONAUKOWE STRESZCZENIE PROJEKTU

Wirus enzoptycznej białaczki bydła (*Bovine Leukemia Virus -BLV*), który wspólnie z *Human T-cell leukemia virus (HTLV)* zaliczany jest do rodziny *Retroviridae* i klasyfikowany jako rodzaj *Deltaretrovirus* jest czynnikiem etiologicznym enzoptycznej białaczki bydła (EBB). Jakkolwiek choroba ta charakteryzuje się długim okresem inkubacji, to już w ciągu kilku godzin po zakażeniu materiał genetyczny wirusa pozostaje zintegrowany w formie prowirusowego DNA z genomem gospodarza. W przebiegu zakażenia większość zwierząt pozostaje klinicznie zdrowa (forma aleukemiczna), jednak u około 30-70% zakażonych zwierząt następują zmiany proliferacyjne w układzie limforetikularnym prowadzące do przewlekłej limfocytozy (forma leukemiczna), co związane jest głównie z rozplemem limfocytów B o fenotypie CD5+. U od 0, 1 do 10% zakażonych zwierząt obserwuje się zmiany guzowate w węzłach chłonnych i narządach wewnętrznych, co określa się, jako formę guzowatą EBB.

Nieznana jest profilaktyka swoista zakażeń BLV, dlatego walka z EBB polega na wczesnym wykrywaniu zakażonych zwierząt i bezwzględny eliminowaniu z hodowli. To z kolei przyczynia się do ogromnych strat ekonomicznych spowodowanych ubojem takich zwierząt, restrykcjami w obrocie zwierzętami i sprzedaży mleka. Dlatego tak istotną rolę przypisuje się diagnostyce zakażeń BLV, w której dominującą rolę odgrywa stosowanie metod serologicznych (ELISA) i molekularnych (wykrywanie prowirusowego DNA metodą PCR). Jednak ciągłym problemem spotykanym w stadach już uwolnionych są tzw. nowo pojawiające się przypadki zakażeń BLV. Przypuszcza się, że jednym z czynników determinujących to zjawisko jest obecność wariantów BLV o obniżonym potencjale replikacyjnym, co w warunkach zakażenia naturalnego charakteryzuje się niską liczbą kopii prowirusa i może skutkować opóźnioną serokonwersją. Jedną z przyczyn tego zjawiska upatruje się w obniżonym poziomie transkrypcji wirusa, do której może dojść na skutek mutacji w regionie LTR, uniemożliwiających efektywne wiązanie czynników transkrypcyjnych. W tym względzie poszukiwanie mechanizmów molekularnych leżących u podstaw tego zjawiska jest szczególnie istotne, zwłaszcza w kontekście pojawiania się nowych zakażeń i ich wczesnej diagnostyki.

W związku z tym, celem ogólnym pracy będzie analiza zmian nukleotydowych w regionie LTR, zmian aminokwasowych w genie *tax* oraz zmian w genie kodującym mikroRNA zaobserwowanych w sekwencjach prowirusa białaczki bydła (BLV) izolowanych z przypadków tzw. nowopojawiających się zakażeń w stadach, które uprzednio uzyskały status wolnych od zakażeń BLV oraz próba analizy funkcjonalnej tych zmian w badanych regionach.

Cele szczegółowe obejmują:

- Analiza mutacji w regionie LTR oraz genie *tax*
- Oznaczanie liczby kopii prowirusowego BLV DNA
- Badanie aktywności transkrypcyjnej promotora w obecności białka Tax
- Analiza mutacji w regionie kodującym miRNA i określenie związku tych mutacji z poziomem ekspresji wirusowego mRNA

Wyniki badań pozwolą ocenić czy w populacji bydła naturalnie zakażonego BLV występują warianty genetyczne wirusa o obniżonym potencjale transkrypcyjnym, co związane jest z występowaniem mutacji w regionach regulatorowych genomu wirusa. Przyjmując, że aktywność transkrypcyjna BLV w bezpośredni sposób determinuje jego poziom replikacji w zakażonych komórkach i liczbę zakażonych komórek, a także wpływa na poziom indukowania odpowiedzi humoralnej, wyniki badań będą pomocne w określeniu wpływu mutacji w regionach ważnych dla replikacji wirusa na poziom tej replikacji. Pozwoli to określić rolę i znaczenie zmienności genetycznej BLV na występowanie zakażeń charakteryzujących się niską liczbą kopii prowirusa oraz opóźnioną serokonwersją. Elementy te są krytyczne dla powodzenia diagnostyki zakażeń BLV, opartej na wykrywaniu swoistych przeciwciał w surowicy krwi i prowirusowego DNA. Ważnym aspektem tych badań będzie możliwość odniesienia wyników projektu do obszaru badań związanych z zakażeniami HTLV u ludzi.