

Nowe monowalentne i multiwalentne rekombinowane białka *Borrelia burgdorferi* sensu lato jako potencjalne antygeny do wykrywania swoistych przeciwciał w surowicach pacjentów z boreliozą

Borelioza z Lyme (LB, ang. Lyme borreliosis) jest chorobą wielonarządową wywołaną przez grupę spokrewnionych krętków *Borrelia burgdorferi* sensu lato (sl), które są przenoszone na człowieka podczas ugryzienia przez kleszcze należące do niektórych gatunków rodzaju *Ixodes*. Pomimo znacznych wysiłków mających na celu poprawę nadzoru i kontroli LB w ostatnich dziesięcioleciach, nadal jest to najbardziej rozpowszechniona choroba przenoszona przez stawonogi w strefie klimatu umiarkowanego półkuli północnej. Choroba występuje głównie w Europie, Ameryce Północnej i Azji. Ryzyko zakażenia się krętkami *B. burgdorferi* sl związane jest z rozpowszechnieniem kleszczy, a więc borelioza częściej dotyczy osób żyjących na obszarach wiejskich, leśnych, rolników, myśliwych, grzybiarzy i zbieraczy jagód. Objawy boreliozy są zróżnicowane, przy czym większość z nich nie jest swoista. Najczęstszym objawem choroby z Lyme jest typowe zaczerwienienie w kształcie pierścienia, tzw. rumień wędrujący (EM, *Erythema migrans*), który pojawia się w miejscu ukąszenia przez kleszcza. Zwykle rumień można zaobserwować w ciągu pierwszych dni po ukąszeniu, jednakże w niektórych przypadkach może pojawić się dopiero po kilku tygodniach. Ponadto, nawet u 20 do 50% pacjentów EM może być nieobecny. Oprócz zmian skórnych, we wczesnych stadiach boreliozy, pojawiają się również bardziej ogólne objawy, takie jak zmęczenie, gorączka czy bóle głowy. Co więcej, infekujący patogen może przenosić się do innych tkanek i narządów, powodując bardziej poważne objawy, które mogą obejmować także układ nerwowy, stawy lub serce. Obecnie, na podstawie filogenetycznego podobieństwa, w obrębie kompleksu *B. burgdorferi* sl wyróżnia się co najmniej 20 genogatunków. W Europie kilka z nich jest patogennych dla ludzi (*B. afzelii*, *B. garinii*, *B. burgdorferi* sensu stricto (ss), *B. bavariensis* (wcześniej *B. garinii* OspA serotyp 4) i *B. spielmanii*, natomiast chorobotwórczość innych takich jak *B. lusitaniae*, *B. valaisiana* i *B. bissettiae* nadal wymaga potwierdzenia. Chociaż wszystkie patogenne genotypy mogą powodować rumień wędrujący, to przebieg późnego etapu boreliozy jest w dużym stopniu uzależniony od genogatunku *B. burgdorferi* sl, który wywołał chorobę. Infekcje *B. garinii* i *B. bavariensis* często wywołują objawy neurologiczne (NB, neuroboreliozę), a *B. burgdorferi* ss powoduje głównie boreliozowe zapalenie stawów (LA, *Lyme arthritis*). *B. spielmanii* do tej pory wyizolowano jedynie ze zmian skórnych.

Obecnie diagnostyka boreliozy oparta jest na objawach klinicznych i dwustopniowej detekcji przeciwciał anti-*Borrelia*. Najpierw wykonuje się test ELISA, a następnie przeprowadza się analizę Western blot, w celu potwierdzenia wyników pierwszego badania serologicznego oraz identyfikacji gatunku *B. burgdorferi* sl. Niestety komercyjnie dostępne testy diagnostyczne różnią się swoistością i czułością. Testy te oparte są na preparatach lizatów pełnokomórkowych antygenów natywnych, oczyszczonych antygenach krętków (takich jak np. flagelina, białko budujące wici) lub antygenach pełnokomórkowych wzbogaconych białkami rekombinantowymi. Złożoność kompozycji antygenowej wśród genotypów *Borrelia* i zróżnicowana ekspresja genów kodujących poszczególne białka w gospodarzu i wektorze (tj. czasowa i przestrzenna zmienność antygenowa) stanowią niezmiernie istotne wyzwania dla prawidłowej serodiagnostyki boreliozy. Ostatnie osiągnięcia w dziedzinie inżynierii genetycznej i biotechnologii, mające na celu opracowanie nowych form monowalentnych i multiwalentnych/chimerycznych rekombinantowych antygenów syntetyzowanych w mikroorganizmach transformowanych genami kodującymi zakonserwowane fragmenty antygenów charakterystycznych dla genogatunków należących do kompleksu *B. burgdorferi* sl, mogą sprostać wspomnianym wyzwaniom diagnostycznym. Nowy trend w generowaniu rekombinantowych antygenów polega właśnie na opracowaniu tzw. chimerycznych białek (multiwalentnych), złożonych z fragmentów pochodzących z dwóch, trzech lub więcej antygenów. Z tego też powodu celem niniejszego projektu badawczego jest otrzymanie nowych białek rekombinantowych *B. burgdorferi* sl w prokariotycznym systemie ekspresyjnym, a następnie określenie ich właściwości antygenowych. W naszej ocenie, zastosowanie epitopów komórek B ze szczepów *B. burgdorferi* sl specyficznych dla określonych obszarów geograficznych oraz wysoce zakonserwowanych fragmentów białek może pozwolić na poprawę badań serodiagnostycznych w kierunku boreliozy. Tak więc, nowe chimeryczne antygeny, złożone z wybranych epitopów/fragmentów białek, dają nadzieję na rozwiązanie obecnego problemu diagnostyki boreliozy powodowanej przez różne genogatunki *B. burgdorferi* sl. Odpowiednia selekcja różnych fragmentów białek krętków, opracowanie nowych form białek chimerycznych, a następnie potwierdzenie ich właściwości antygenowych jest początkowym etapem rozwoju nowych testów immunodiagnostycznych.