

STRESZCZENIE

Profil ekspresji genów uczestniczących w naturalnej obronie komórek NHDF przed zakażeniem endogennymi retrowirusami świni

Jednym z mechanizmów obronnych komórki przed zakażeniem wirusami są czynniki restrykcyjne. Są to białka antywirusowe stanowiące pierwszą linię obrony. Działają w sposób bezpośredni blokując lub przynajmniej ograniczając replikację retrowirusów. Transmisja retrowirusów może odbywać się wewnątrzgatunkowo oraz międzygatunkowo. Ryzyko przeniesienia międzygatunkowego wzrasta wielokrotnie w przypadku ksenotransplantacji. Ze względu na fakt, iż potencjalnym dawcą jest świnia, wirusem, który budzi szczególną troskę jest endogenne retrowirusy świni – PERV.

Celem pracy była ocena infekcyjności endogennych retrowirusów świni (PERV) w modelowym układzie kokultury prawidłowych ludzkich fibroblastów skóry (NHDF) i komórek nabłonkowych nerki świńskiej (PK15) hodowanych w warunkach standardowych oraz w warunkach stanu zapalnego wywołanego lipopolisacharydem bakteryjnym (LPS). W komórkach NHDF oceniono także aktywności transkrypcyjną genów uczestniczących w naturalnej obronie przed zakażeniem endogennymi retrowirusami świni w obecności i braku dodatkowego czynnika prozapalnego LPS.

W celu oceny infekcyjności wirusów PERV wyznaczono liczbę kopii DNA i RNA endogennego retrowirusa świni w ludzkich fibroblastach skóry techniką QPCR i QRT-PCR. Badanie profilu ekspresji genów uczestniczących w naturalnej obronie komórek NHDF przed zakażeniem endogennymi retrowirusami świni w badanych grupach przeprowadzono metodą mikromacierzy oligonukleotydowych.

W przeprowadzonym doświadczeniu wykazano różną infekcyjność retrowirusów PERV w stosunku do fibroblastów skóry ludzkiej w zależności od warunków hodowli. Fibroblasty zakażone endogennymi retrowirusami PERV w warunkach stanu zapalnego stymulowanego lipopolisacharydem bakteryjnym wykazywały mniejszą liczbę kopii DNA PERV-A oraz większą liczbę kopii RNA PERV-A i PERV-B. Komórki te również cechowały się większą aktywnością genów uczestniczących w naturalnej obronie, zaliczanych do czynników restrykcyjnych. Fakty te mogą sugerować, że LPS włącza mechanizmy obronne komórki wpływające na fazę wczesną cyklu replikacyjnego PERV oraz wyłącza mechanizmy obronne komórki wpływające na fazę późną cyklu replikacyjnego PERV. Poziom ekspresji

TRIM22, TRIM2 oraz TRIM28 w tych komórkach wykazywał charakter addytywny w porównaniu do komórek na które działał jeden czynnik (LPS bądź PERV). Wzrost ekspresji TRIM22, TRIM2 oraz wyciszenie TRIM28 może stanowić marker uzupełniający w różnicowaniu monoinfekcji od koinfekcji wywołanej PERV i/lub bakteriami Gram-ujemnymi.

Słowa kluczowe: endogenne retrowirusy świni, czynniki restrykcyjne, mikromacierze oligonukleotydowe