

Varga-Kugler Renáta^{1*}, Nagy Borbála Ágnes¹, Kaszab Eszter¹, Forró Barbara¹, Bányai Krisztián¹

ROTAVÍRUS NSP1 GÉNEK HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA AZ INTERFERON TERMELESRE SEJTKULTÚRÁBAN

A különböző rotavírus specieszek (RVA-RVJ) evolúciójuk során számos, egymást komplementáló mechanizmust fejleszthettek ki a gazdaszervezet immunválaszadó képességének gátlására. A RVA törzsek egyik legfontosabb eszköze ebben a küzdelemben az NSP1 fehérje. Az RVA NSP1 egy E3 ubiquitin ligáz, mely a patogén mintázat felismerésének szintjétől kezdve, az interferon (IFN) kaskád szignálfolyamatainak intermedierjein át a transzkripció szintjéig képes gátolni a sejt vírusszaporodással interferáló mechanizmusait. A RVB-RVJ (azaz non-RVA) törzsek esetében az NSP1-szerű géntermékek szekvenciái a RVA NSP1 fehérjéjétől akár 90%-ban is eltérhetnek; ezek funkciójára vonatkozóan hiányoznak az ismeretek.

Vizsgálataink célja az volt, hogy meghatározzuk a non-RVA törzsek NSP1-szerű fehérjeinek lehetséges szerepét a sejt IFN termelésének gátlásában.

Laboratóriumunkban azonosított non-RVA törzsek NSP1-génjét amplifikáltuk, majd eukarióta expressziós vektorba (pcDNA3) klónoztuk. Az IFN indukciójához poli I:C molekulát használtunk. Az IFN transzkripció mértékét részben fajidegen (csirke, sertés, macska), részben fajazonos (kutya) epithel jellegű (CRFK, MDCK, PK15, LMH) és fibroblaszt (A72) sejtvonalakban mértük transzfekciót követően, faj-specifikus Taqman assay segítségével.

A CRFK és LMH sejtekben nem figyeltünk meg poli I:C által kiváltott IFN termelést, az MDCK és PK15 sejtekben volt ugyan IFN indukció, de a vizsgált rotavírus NSP1 gén nem okoztak csökkenést az IFN gén kifejeződésében. A kutya eredetű A72 sejtvonalon a fajidegen (denevérből kimutatott) RVJ NSP1 40%, a fajazonos (kutyaéből kimutatott) RVC és RVI NSP1 36% illetve 83% csökkenést idézett elő az IFN gén transzkripciójában.

A RVA NSP1 génen alapuló szakirodalmi adatok alapján jelentős IFN redukciót vártunk. Az általunk vizsgált non-RVA NSP1 gének azonban jóval kisebb mértékű csökkenést idéztek elő az IFN gén transzkripciójában. Az eltérés mögött több magyarázat is lehetséges. Az alkalmazott kísérleti rendszerek eltérőek voltak és elképzelhető, hogy az itt használt sejttípusok, azok eltérő gazda- és szervi eredete miatt kevésbé voltak alkalmasak a célkitűzésekben feltett kérdések megválaszolására. Lehetséges továbbá, hogy a non-RVA törzsek egy részénél az NSP1 fehérje nem ugyanazt a feladatot látja el, mint az RVA törzseké, vagy ha mégis, akkor a folyamat hatékonyságában lehetnek jelentős eltérések.

A kutatómunka anyagi fedezetét a Nemzeti Kutatási, Fejlesztési és Innovációs Hivatal KH126521 számú pályázata biztosította.