

Záverečná karta projektu

Názov projektu

Evidenčné číslo projektu

APVV-0676-12

Charakterizácia nového motívu v M1 proteíne chrípkového vírusu a využitie NS1 delečných mutantov v nádorovej terapii

Zodpovedný riešiteľ **RNDr. Tatiana Betáková, DrSc.**

Príjemca

Biomedicínske centrum SAV, Virologický ústav

Názov pracoviska, na ktorom bol projekt riešený

1. Biomedicínske centrum SAV, Virologický ústav
- 2.
- 3.
- 4.
- 5.

Názov a štát zahraničného pracoviska, ktoré spolupracovalo pri riešení

- 1.
- 2.
- 3.

Udelené patenty/podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory, ktoré sú výsledkami projektu

- 1.
- 2.
- 3.

Najvýznamnejšie publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu – uveďte aj publikácie prijaté do tlače

1. Svancarova P, Svetlikova D, Betakova T. : Synergic and antagonistic effect of small hairpin RNAs targeting the NS gene of the influenza A virus in cells and mice. Virus Res. 2015 Jan 2;195:100-11. doi: 10.1016/j.virusres.2014.08.004. (2.827 - IF2013).
2. Lukacikova, L, Oveckova I, Betakova T, Laposova K, Polcicova K, Pastorekova S, Pastorek J, Tomaskova J.: Antiviral Effect of Interferon Lambda Against Lymphocytic Choriomeningitis Virus. In Journal of Interferon & Cytokine Research, 2015, vol. 35, no. 7, p. 540 - 553. (2.000 - IF2014). ISSN 1079-9907.
3. Svancarova P., Svetlikova D., Betakova T.: Induction of interferon lambda influenza A virus infected cells treated with shRNAs against M1 transcript. In Acta Virologica : international

journal, 2015, vol.59 , no. 2, p.148-155. (1.280 - IF2014). ISSN 0001-723X

4. Skorvanova L, Svancarova P, Svetlikova D, Betakova T.: Protective efficacy of IFN- ω and IFN- λ s against influenza viruses in induced A549 cells. In Acta Virologica : international journal, 2015, vol.59 , no. 4, p.413-417. (1.280 - IF2014). ISSN 0001-723X

5. Betakova T, Kostrabova A, Lachova V, Turianova L. Cytokines Induced During Influenza Virus Infection. Curr Pharm Des. 2017, vol.23, p. 2616-2622. (2.611 – IF2016). ISSN: 1381-6128

Uplatnenie výsledkov projektu

Projekt riešil otázky základného výskumu a neočakávala sa jeho okamžitá aplikácia do praxe. Niektoré dosiahnuté výsledky by však mohli byť prínosom pre klinickú medicínsku prax. Príčinou komplikácii ochorení na vírus chrípky nemusí byť samotná replikácia vírusu v organizme, ale neprimerane silná zápalová reakcia, ktorá vzniká v dôsledku nadmernej aktivácie zložiek imunitného systému a môže spôsobovať imunopatologické poškodenie epitelu dýchacích ciest a pľúc. Naše výsledky ukazujú, že nielen zvýšená hladina chemokínov, ale hlavne zvýšená hladina niektorých interleukínov sa spája s najťažšími stavmi, ktoré môžu končiť smrťou. Cílené sledovanie a kontrola hladiny cytokínov, ktoré sú počas infekcie produkované v nadmerných množstvách a sú spájané s úmrtnosťou, by mohlo v budúcnosti predstavovať jeden z možných prístupov na zmiernenie priebehu vírusových ochorení.

CHARAKTERISTIKA VÝSLEDKOV

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v slovenskom jazyku (max. 20 riadkov)

Zistili sme, že vysokokonzervatívny metionín 165, ktorý je súčasťou aminokyselín v malej α -helikálnej oblasti H10 je esenciálny pre replikáciu vírusu a ovplyvňuje transport a lokalizáciu M1, NP, CLUH a CRM1 proteínov do jadra.

NS1 delečné mutanty sa v SHP-77 tumorovej línii množili do nízkych titrov a hypoxické podmienky negatívne ovplyvňovali replikáciu týchto delečných vírusov. Počas inkubácie buniek v hypoxických podmienkach sme detegovali zvýšenú expresiu mRNA IFN- γ a zníženú hladinu interferónov typu I a interferónov typu III a PRR receptorov. NS1 delečný vírus ovplyvňoval expresiu mRNA IFN- β , PRR receptorov, PKR a CXCL10 v normotických podmienkach.

Rozšírili sme poznatky o funkcii NS1 proteínu. Zistili sme, že v pľúcach myší infikovaných vírusmi chrípky, NS1 proteín neovplyvňuje iba expresiu interferónov, ale inhibuje produkciu rôznych interleukínov, chemokínov a rastových faktorov.

Identifikovali sme nové interleukíny, ktorých expresia úzko súvisela s infekčnou dávkou vírusu a korelovala so zhoršeným zdravotným stavom infikovaných zvierat.

Zistili sme, že IL-33, osteopontín, Ang-2 a IRF7 by mohli zohrávať pozitívny úlohu pri infekcii vírusom chrípky, pretože boli detegované iba v pľúcach myší, ktoré infekciu vírusom chrípky prežili.

Infekcia vírusmi chrípky ovplyvňovala aj expresiu rôznych adipokínov, pričom ich expresia nesúvisela s NS1 proteínom. Zaujímavé je, že práve nízkoviruletné kmene indukujú syntézu adipokínov. Tieto proteíny neboli doteraz spájané s infekciou vírusom chrípky a ich úloha zatiaľ nie je známa.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu v anglickom jazyku (max. 20 riadkov)

We have found out that high conserved methionine 165 in α -helical loop H10 is essential for

virus replication. Mutation M165 influenced transport and localization of M1, NP, CLUH and CRPM1 proteins in nuclei.

The NS1 deletion mutants replicated with low efficiency in the SHP-77 tumor cells and hypoxia has a negative effect on the replication of these deletion mutants. We have detected the increased level of mRNA IFN- γ and decreased level of mRNA interferons type I and interferons type III and PRR receptors in the cells incubated under hypoxia. NS1 deletion mutant influence expression of mRNA IFN- β , PRR receptors, PKR and CXCL10 under normal condition.

We have extend the knowledge about the function of NS1 protein. We have found out, that NS1 protein influence not only expression of interferons but also interleukins, chemokines and growing factors in the lungs of infected mice.

We have identified new interleukins, which expression correlated with virus dose and bad health condition of infected mice.

IL-33, osteopontin, Ang-2, and IRF7 could have a positive effect during influenza infection. They have been synthesized only in the lung of surviving mice.

Influenza virus influence also expression of several adipokines and their expression did not depend on NS1 protein. It is interesting that adipokines were induced only by low virulent strains of influenza virus. The function of these proteins in pathogenesis of influenza virus is not known yet.

Svojím podpisom potvrdzujem, že údaje uvedené v záverečnej karte sú pravdivé a úplné a súhlasím s ich zverejnením.

Zodpovedný riešiteľ

RNDr.Tatiana Betáková, DrSc.

V Bratislave 24. 10. 2017

Štatutárny zástupca príjemcu

prof.RNDr.Silvia Pastoreková, DrSc.

V Bratislave 26. 10. 2017

.....
podpis zodpovedného riešiteľa

.....
podpis štatutárneho zástupcu príjemcu