

Formulár ZK - Záverečná karta projektu

Riešiteľ: RNDr. Marcela Kúdelová, DrSc.	Evidenčné číslo projektu: APVV-51-005005
Názov projektu: Myší herpetický vírus 72 ako model na štúdium štrukturálne a/alebo funkčne konzervatívnych génov onkogénnych herpetických vírusov infikujúcich ľudí	

Na ktorých pracoviskách bol projekt riešený:	Virologický ústav SAV
Ktoré zahraničné pracoviská spolupracovali pri riešení (názov, štát):	0

Udelené patenty alebo podané patentové prihlášky, vynálezy alebo úžitkové vzory vychádzajúce z výsledkov projektu:	Úžitkový vzor– bola vypracovaná metodika pre špecifickú diferenciáciu rôznych kmeňov Myšieho herpetického vírusu (MHV72,MHV68,MHV4556) využívajúca PCR
	Úžitkový vzor- bola vypracovaná metodika kvantitatívnej detekcie ľudského herpetického cytomegalovírusu využívajúce real time PCR
	Úžitkový vzor- bola vypracovaná diagnostická metóda pre dôkaz infekcie kože a slizníc ľudskými herpetickými vírusmi a papilomavírusmi
Publikácie (knihy, články, prednášky, správy a pod.) zhrňujúce výsledky projektu (uved'te i publikácie prijaté do tlače): Uvádzajte maximálne päť najvýznamnejších publikácií.	Murid herpesvirus 4 (MHV 4): an animal model for human gammaherpesvirus reasearch (2007). In: <i>Latency Strategies of Herpesviruses</i> , /Minarovits, J, Gonczol, E, Valyi-Nagy, T. eds./ Springer Berlin Heidelberg New York, ISBN-10: 0-387-32464-X. Chapt. V, pp 102-136 <u>Rajčáni, J., Kúdelová, M.</u>
	Murine Gammaherpesvirus (MHV) MK3 Gene Sequence Diversity among 72, 4556, and 68 Strains. <i>Virus Genes</i> (2006). Vol. 33, pp 51-58. <u>Valovičová, M., Režuchová, I., Mačáková, K., Petrová, P., Matis, J., Kúdelová, M.</u>
	Chemokine binding activities of M3 protein encoded by murine gammaherpesvirus strain 72. <i>Acta virologica</i> (2008). 52, pp 91-97. <u>Belvončíková, P., Kráľová, A., Kúdelová, M., Hajnická, V., Režuchová, I., Vančová, I.</u>
	Comparison of pathogenic properties of the murid gammaherpesvirus (MuHV 4) strains: a role for immunomodulatory proteins encoded by the left (5-)end of the genome. <i>Central European Journal of Biology</i> , (2008) .3 (1), pp 19-30. <u>Mistríková J,</u>
	Recombinant Murine herpesvirus 72 deficient in MK3 gene encoding viral immune evasion protein. (2009):XVIII. Tomasek days, 4-5. 6. 2009. Brno, Czech Republic, P13-14, <u>Halášová, Z., Pančík P., Režuchová I., M. Kúdelová</u>
V čom vidíte uplatnenie výsledkov projektu:	Nové poznatky o vlastnostiach imunomodulačných proteínov kódovaných Myším herpetickým vírusom poskytujú možnosť ich využitia v imunodulačnej terapii chronických herpetických infekcií ľudí spôsobených predovšetkým onkogénnymi kmeňmi týchto vírusov

Charakteristika výsledkov

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - slovensky:

Myší herpetický vírus (MHV) je medzinárodne akceptovaným modelom na štúdium patogenézy ľudských onkogénnych gammaherpesvírusov vírusu Epsteina-Barrovej (EBV) a Kaposiho vírusu (KSHV). Štúdium molekulárnych a patogenetických vlastností kmeňov MHV (MHV72h.3.7, MHV72, MHV78, MHV4556, MHV60, MHVŠumava, MHV68), kmeňa s prirodzenými mutáciami génov M1-M4 (MHV76) a rekombinantných kmeňov s funkčne deletovanými "immune evasion" génmi M3 a K3 (MHV72M3del a MHV72K3del) pripravených molekulárno-biologickými metódami rozšírilo znalosti o génoch homologických s génmi EBV a/alebo KSHV, a vedomosti o "immune evasion" génoch dôležitých pre infekciu hostiteľa s MHV. Analyzovali sme genóm MHV kmeňov odlišujúcich sa biologickými vlastnosťami. Restrikčné a sekvenčné analýzy genómov potvrdili neprítomnosť delécie na 5'konci genómu MHV72h.3.7 a MHV4556 a delécie u MHV72 zahrnujúce M3 gén. U MHVŠumava sme potvrdili ~9.3 kbp deléciu na 5'konci známu u MHV76, ale aj unikátnu ~1.5 kbp deléciu na 3'konci genómu. Podobné delécie sme potvrdili u MHV60. Analýzy vybraných 6 neštruktúrnych a 16 štruktúrnych génov MHV72h.3.7 (s novými Acc.Nos., GenBank) potvrdili 10 kmeňovo špecifických kodón meníach mutácií. Mutácie sme potvrdili v génoch M3, ORF4, K3. Šesť z nich mení antigenicitu štruktúrnych proteínov pravdepodobne zodpovedných za virulenciu MHV72h.3.7. Stanovili sme tiež sekvenciu 20% genómu MHV4556. Testovanie anti-chemokínových aktivít M3 proteínu MHV72h.3.7 potvrdilo, že jediná mutácia blízko väzobného miesta môže byť zodpovedná za atenuáciu imunologickej odpovede na infekciu s MHV72h.3.7. Výsledky ukázali široký potenciál M3 proteínu meniť jeho imunomodulačné vlastnosti riadenou mutagenézou. *In vitro* štúdie rekombinantných vírusov MHV72M3del a MHV72K3del ukázali, že delécie génov M3 a K3 spôsobujú dramatické zníženie infekčnosti MHV, čo znamená, že gény M3 a K3 majú *in vivo* kľúčovú úlohu v navodení latencie a reaktivácii. Porovnávacie *in vivo* štúdie patogenézy akútnej a chronickej infekcie s MHV72 (s deléciou M1 a M2), MHV78, MHV72h.3.7, MHV60, MHVŠumava a MHV76 identifikovali M4 proteín ako ďalší imunomodulátor, ktorý je spolu s komplexitou genómu MHV zodpovedný za odlišný onkogénny potenciál MHV kmeňov. Výsledky projektu obsahujú nové údaje o epidemiológii MHV, nových nádorových líniiach derivovaných z orgánov chronicky infikovaných s MHV78, ktoré umožnia študovať mechanizmy tumorigenézy ľudských gammaherpesvírusov, nových molekulárnych metódach diagnostiky MHV a niektorých ľudských herpesvírusov a údaje o imunitnej odpovedi na experimentálnu imunizáciu herpesvírusovými vakcínami.

Súhrn výsledkov riešenia projektu a naplnenia cieľov projektu (max. 20 riadkov) - anglicky:

Murid herpesvirus4 (MuHV4) represents internationally accepted model for study on pathogenesis of human oncogenic gammaherpesviruses mainly EBV and KSHV. Studies on molecular biological and pathogenetical properties of natural MHV strains (MHV72h.3.7, MHV72, MHV78, MHV4556, MHV60, MHVŠumava, MHV68), strain with spontaneous deletion of M1-M4 genes (MHV76) as well as recombinant viruses with functionally deleted immune evasion genes M3 and K3 (MHV72M3del and MHV72K3del) contribute to the knowledge about genes homologous to those of EBV and/or KSHV and also genes important for virus evasion in its host (M3 and K3). Genomes of MHV strains with different biological properties were closely analysed. The full-length complexity of left end of MHV72h.3.7 and MHV4556 and deletions present in MHV72 (including M3 gene) was confirmed by restriction and sequence analyses. The ~9.3 kbp deletion at the left end of MHVŠumava genome was confirmed similar to that in MHV76 but the ~1.5 kbp deletion at the right end of genome was found unique for this strain. MHV60 possess similar deletions of varying length. Analyses of selected 7 non-structural and 16 structural genes of MHV72h.3.7 (assigned with new Acc. Nos., GenBank) identified 10 strain specific codon-changing mutations. They were found in M3, ORF4, and K3. Six of them changed antigenicity of structural proteins most likely attributing MHV72h.3.7 virulence. Sequence of 20% of MHV4556 genome was determined. Testing of variety of chemokine-binding activities of M3 protein of MHV72h.3.7 confirmed that only unique mutation (near binding site) might be involved in immune response attenuation to infection with MHV72h.3.7. Results confirmed a strong potential of M3 protein to alter its immunomodulation properties via site-directed mutagenesis. Studies on recombinant viruses MHV72M3del and MHV72K3del *in vitro* show that individual deletion of each of both immune evasion genes decreases infectivity of MHV72h.3.7 suggesting a key role of M3 and K3 proteins during the establishment of latency and reactivation. Comparative studies *in vivo* on acute as well as chronic infection pathogenesis of MHV72 (with deletion of M1 and M2), MHV78, MHV72h.3.7, MHV60, MHVŠumava, and MHV76 suggests a new role of M4 protein as an immunomodulator responsible (currently with left end MHV genome complexity) for different oncogenic potential of MHV strains. Project results contain also new data about MHV epidemiology, the establishment of tumour cell lines derived from organs of mouse chronically infected with MHV78 allowing to study mechanisms of gammaherpesviral tumorigenesis, developing the molecular methods for specific differentiation among MHV strains, development of diagnostics of MHV and some human herpesviruses, and new data about immune response to experimental immunisation with herpesviral vaccines.

Podpisom záverečnej karty riešiteľ vyjadruje svoj súhlas so zverejnením údajov v nej uvedených.

Podpis zodp. riešiteľa:

Dátum: 30.11. 2009

Podpis štatutárneho zástupcu:

Pečiatka: