

AFRIKAI SERTÉSPESTIS VÍRUS *IN VITRO* REKOMBINÁCIÓS RÁTÁJÁNAK TANULMÁNYOZÁSA SERTÉS ALVEOLÁRIS MAKROFÁGOKBAN

Mészáros István, Olasz Ferenc, Tamás Vivien, Görtl Eszter, Oláh Barbara,
Magyar Tibor, Zádori Zoltán



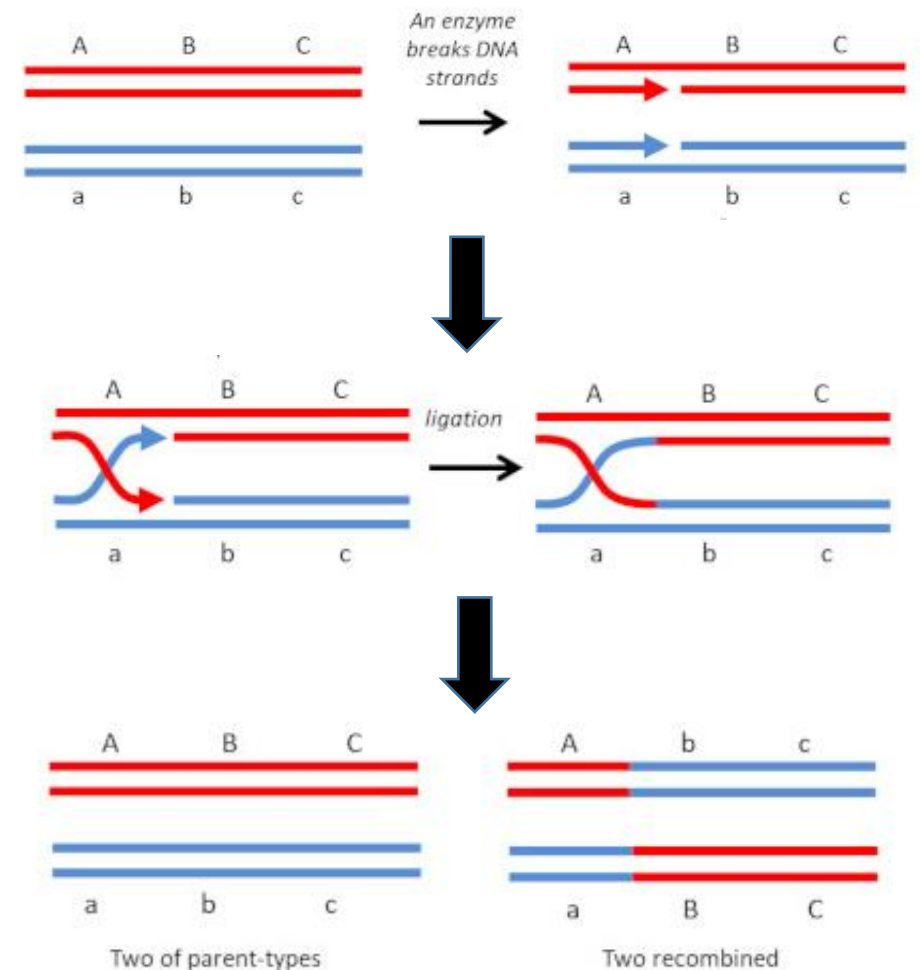
HUN-REN
Magyar Kutatási Hálózat



Bevezetés

- Jelenleg nem áll rendelkezésre hatékony és biztonságos vakcina.
- Élő, attenuált vakcinák jelenthetik a megoldást.
- Potenciális rekombináció vad törzsekkel: új szero- és patotípusok.
- Csak *in silico* és néhány közvetett kísérletes adat.

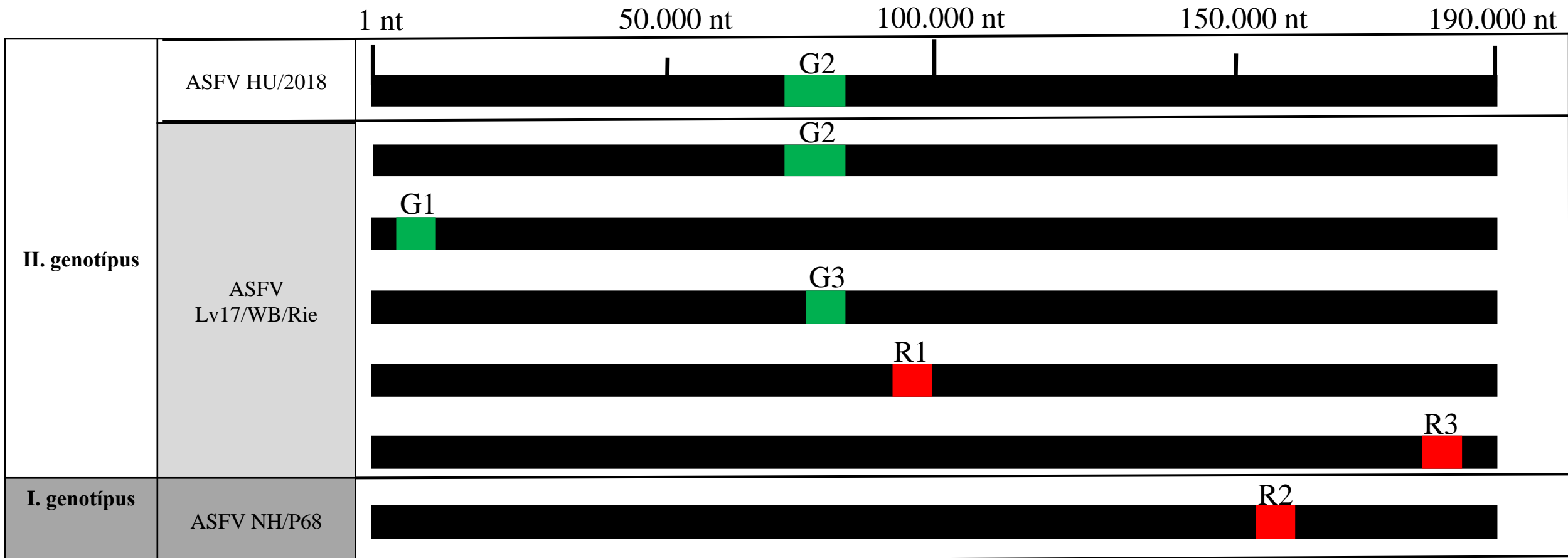
Célkitűzés: Az ASFV *in vitro* rekombinációs rátájának meghatározása és rekombinációt befolyásoló tényezők azonosítása sertés alveoláris makrofágokban (PAM).



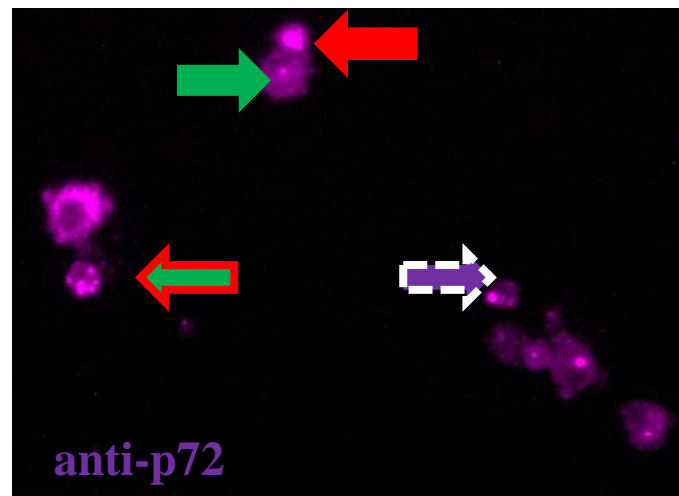
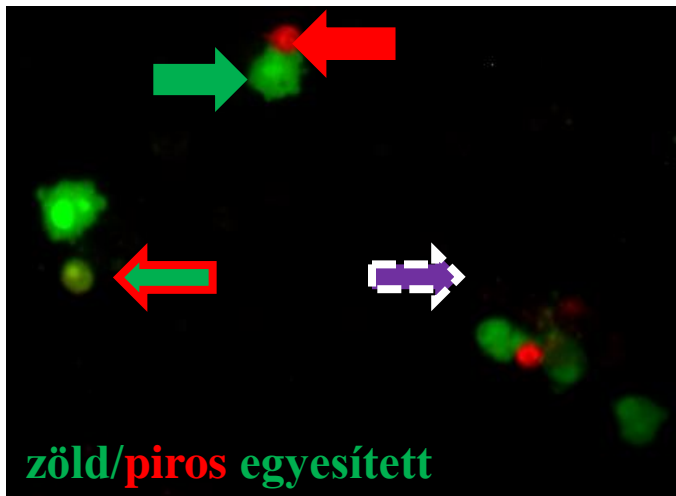
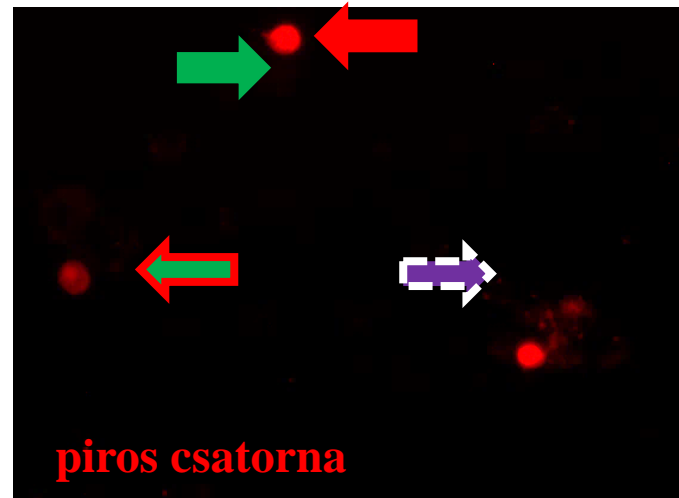
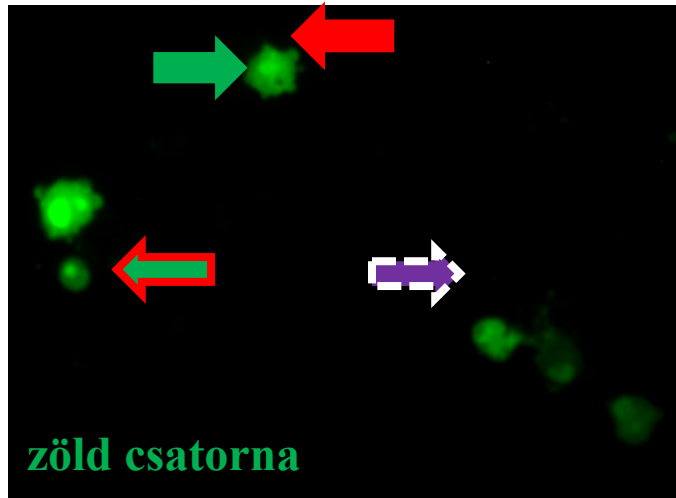
<https://www.encyclopedie-environnement.org/en/life/genome-between-stability-and-variability/>

Módszerek

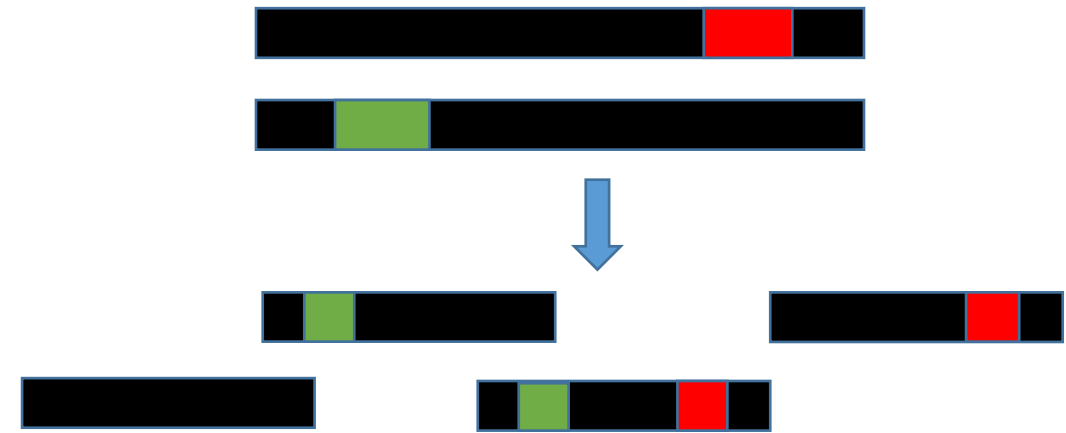
- Négy zöld és három piros marker fehérjét hordozó vírus, három szülő törzsből, két genotípusból.
- Különböző marker fehérjéket hordozó vírustörzs koinfekció - PAM



Rekombinánssok azonosítása



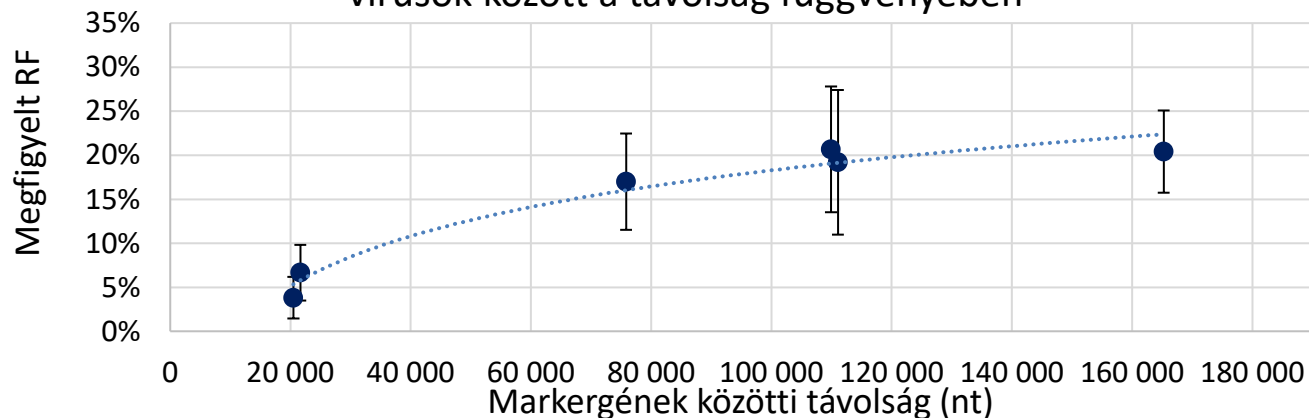
ASFV Lv17 **G+/R-** (zöld) és **G-/R+** (piros) szülő törzsekkel, valamint **G+/R+** (zöld/piros) rekombinánsaikkal fertőzött PAM sejtek. Minden fertőzött sejt és a **G-/R-** rekombináns vírussal fertőzött sejt látható anti-p72 ellenanyaggal jelölve (lila).



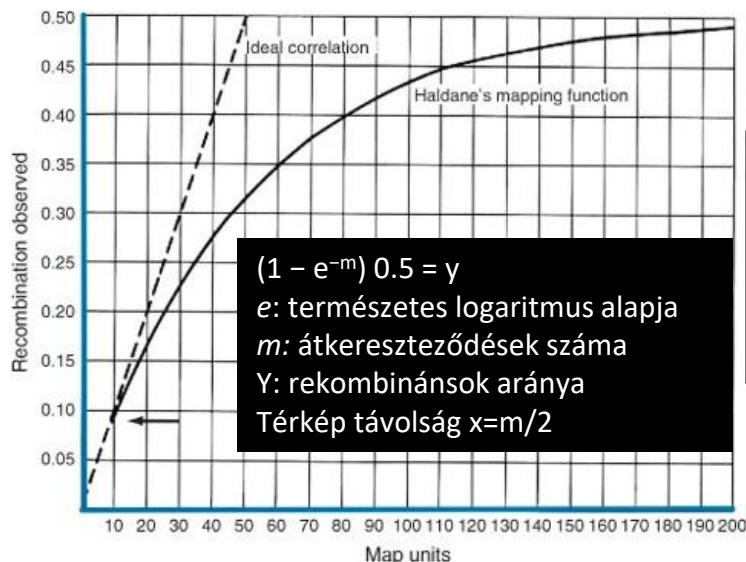
- Előkísérletek alapján: a markerfehérjét expresszáló vírussal fertőzött sejt mindig festődik anti-p72 ellenanyaggal.
- Láthatóak zöld/piros színű sejtek, olyan hígítási fokoknál, ahol a koinfekció már nem valószínűsíthető.
- IF festéssel azonosítottunk olyan fertőzött sejteket, melyek sem zöld sem piros markerfehérjét nem tartalmaztak.

Rekombinációs frekvencia

Rekombinációs frekvencia (RF) azonos szülőtörzsből származó vírusok között a távolság függvényében



- Az RF 5-20% között változott.
- A távolság növekedésével kezdetben nőtt az RF érték.
- 100.000 nt távolság felett nem változott.
- Haldane-függvény alapján **4474 nt** távolságnál lesz 1% az esélye egy rekombináció bekövetkezésének.
- A teljes ASFV genomon **~42,5%** eséllyel történik egy rekombináció!



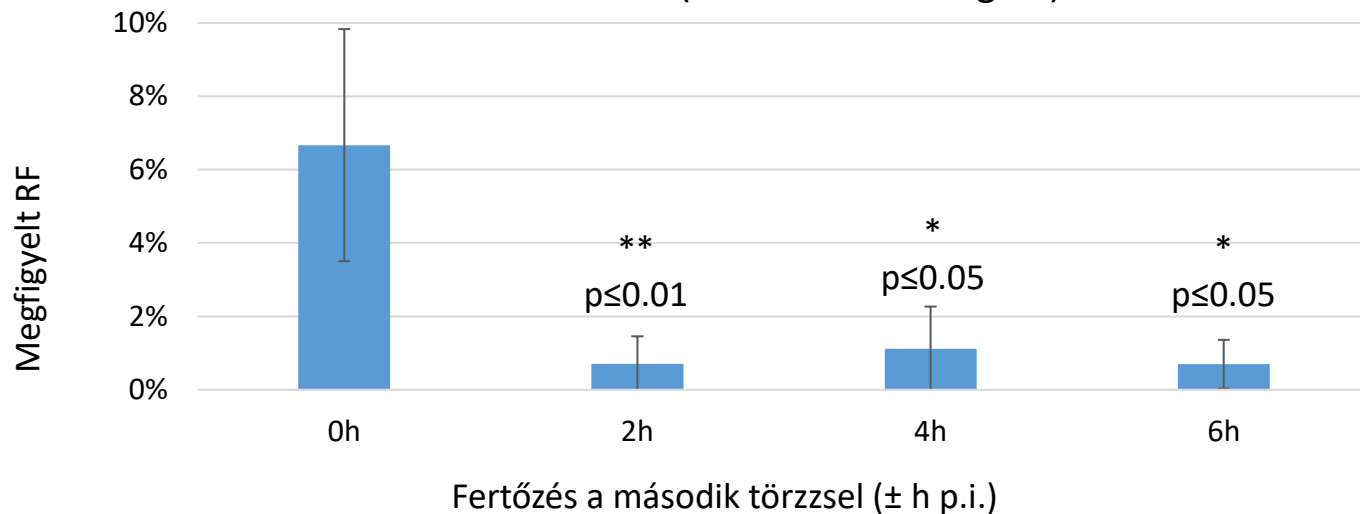
RF = **rekombinációs (piros/zöld + színtelen) vírusok títere / összes (szülői + rekombinációs) vírus títere**

After Haldane JBS 1919 J Genet 8:299

https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6754-9_7297

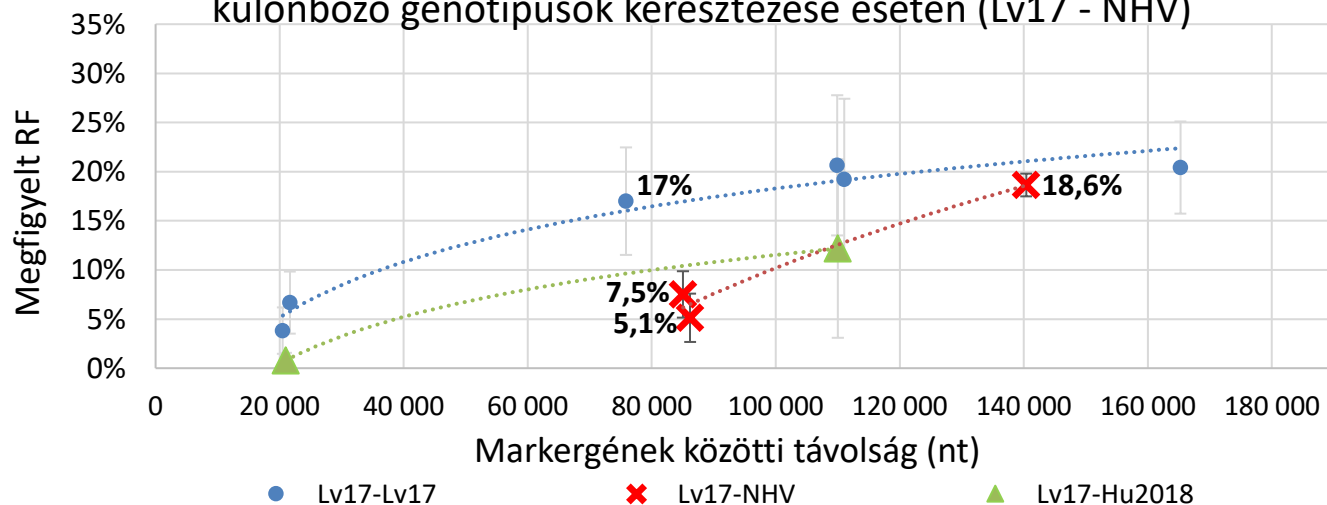
RF-et befolyásoló tényezők

A ko-infekció időeltolásának hatása az RF értékre az ASFV Lv17 G2-R1 vírusokkal (22000 nt távolságnál)



- A fertőzési időpontok elcsúsztatása szignifikánsan csökkentette a rekombináns arányát.

Az RF érték változása különböző szülő törzsek (Lv17 - HU) és különböző genotípusok keresztezése esetén (Lv17 - NHV)



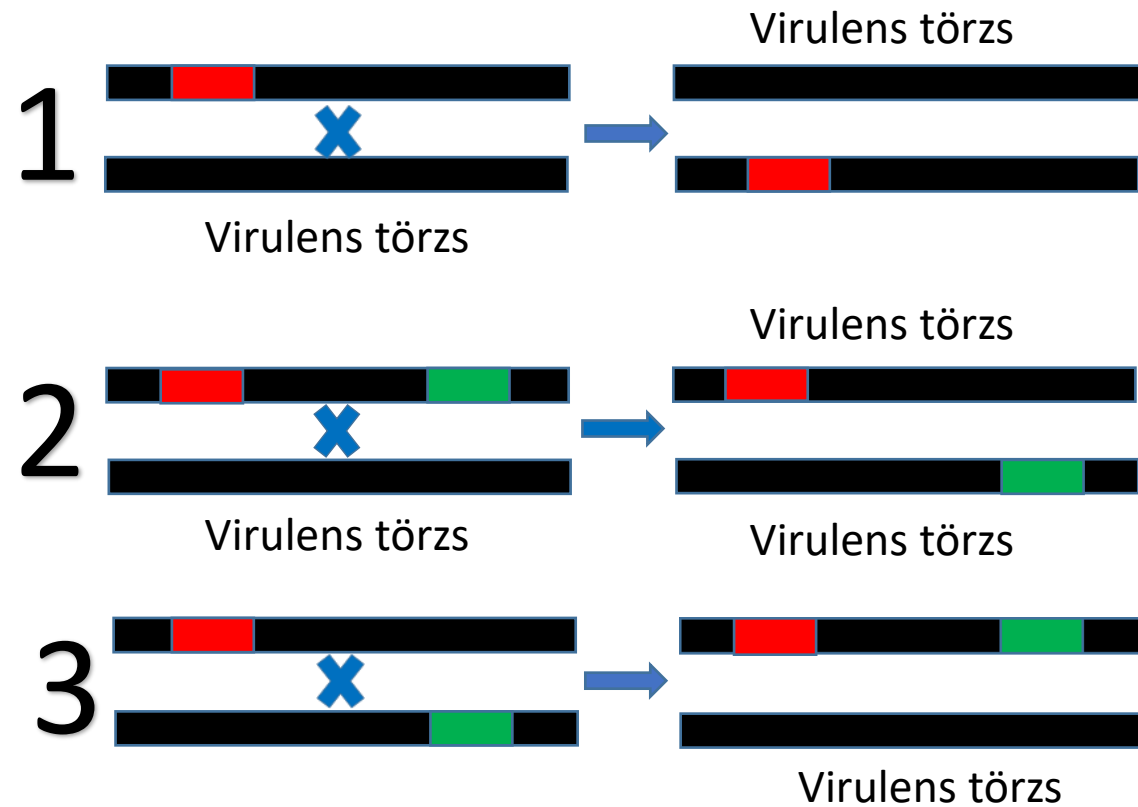
- Lv17 és HU/2018 (azonos genotípus) törzsek között (99,9%-os szekvencia azonosság) 3-8%-kal csökkentek az RF értékek.
- LV17 és NHV (eltérő genotípus) törzsek között (97,8%-os szekvencia azonosság) 10-12%-kal csökkentek az RF értékek.

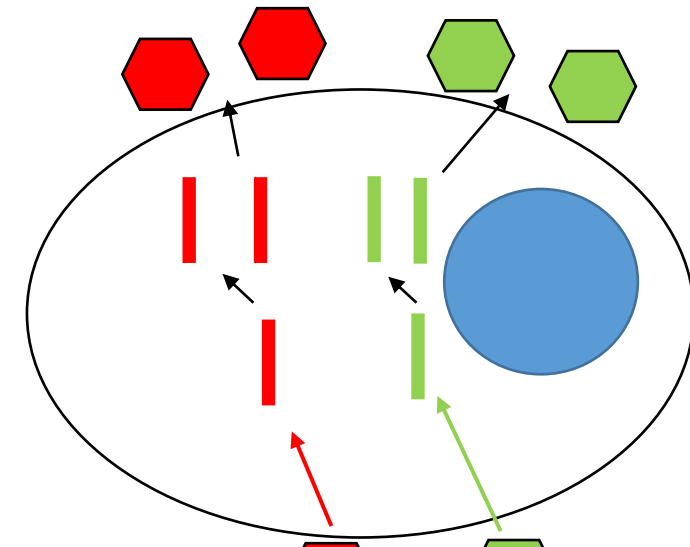
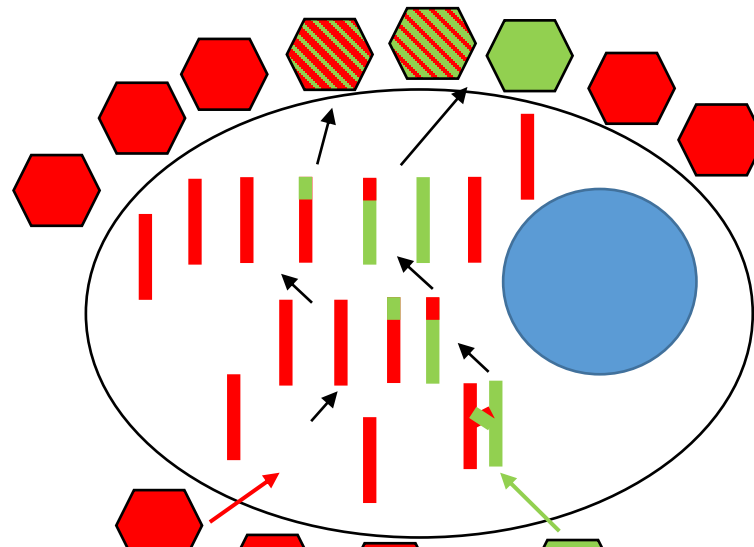
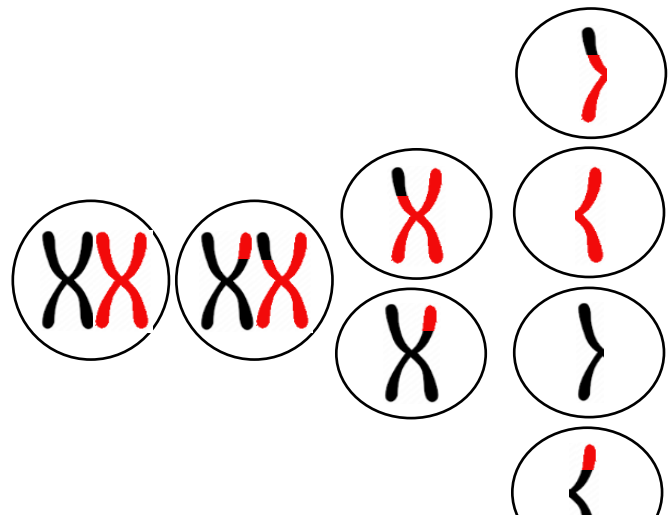
Összefoglalás

- Magas RF. A teljes ASFV genomon minimum 42,5% egy rekombinációs esemény valószínűsége.
- A fertőzés időbeli elcsúszása jelentősen csökkenti a rekombinációs frekvenciát.
- Különböző genotípusok között kisebb eséllyel történik rekombináció, de nem lehet kizárni. A közelmúltban Kínában izoláltak egy I-es és II-es genotípus közötti rekombinánst (Zhao et al., 2023).

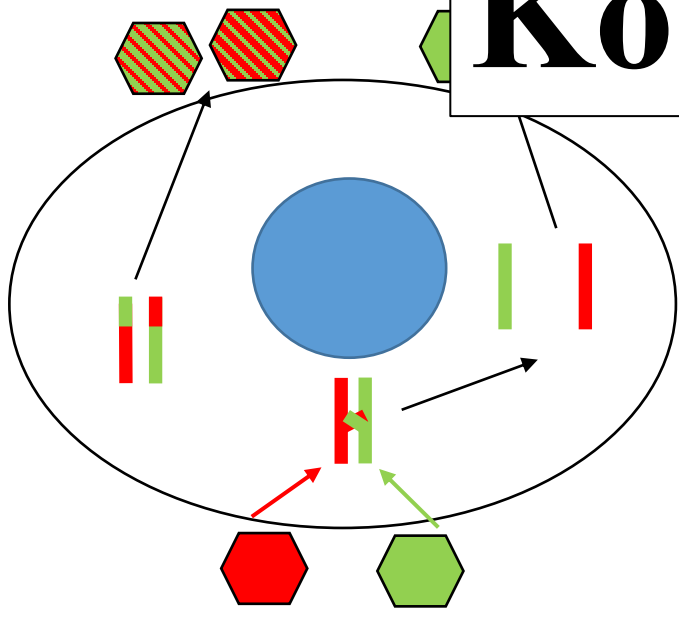
Következtetés

- *In vitro* – nincsenek *in vivo* kísérletek
- Biztonsági szempontból előnyösebb vakcina törzsek:
- Egy genomi régióban vagy egy funkcióhoz köthető deléció. (1)
- Két különböző lókuszon attenuált vakcina használata jelentős kockázatot jelent (2)
- Különböző deléciós vakcina használata jelentős kockázatot jelent. (3)
- Nagy rekombinációs ráta miatt a vakcinázást nem ajánlanánk endémiás területeken.





Köszönöm a figyelmet!



VACDIVA H2020 862874, a KDP-2020, ÚNKP-20-3

