

Närhetsligering (proximitetsligering) för att påvisa bornavirusinfektioner

Projektnamn: Närhetsligering (proximitetsligering) för att påvisa bornavirusinfektioner
Projektledare: Jonas Johansson Wensman, Inst för biomedicin o vet folkhälsovetenskap, SLU
Medsökande: Ulf Landegren, Mikael Berg
Projektnummer: H0747211
År: 2008, 2009
Kontaktperson: Jonas Johansson Wensman, 018-67 46 17, Jonas.Wensman@bvf.slu.se

Syfte

Studien syftade till att förbättra den nuvarande diagnostiken av bornavirusinfektioner genom att använda en metod som kallas närhetsligering. Förhoppningen är att i framtiden kunna säkerställa infektion hos levande djur. Dessutom användes metoden för att studera hur sjukdomen uppkommer genom påverkan av cellens processer.

Resultat

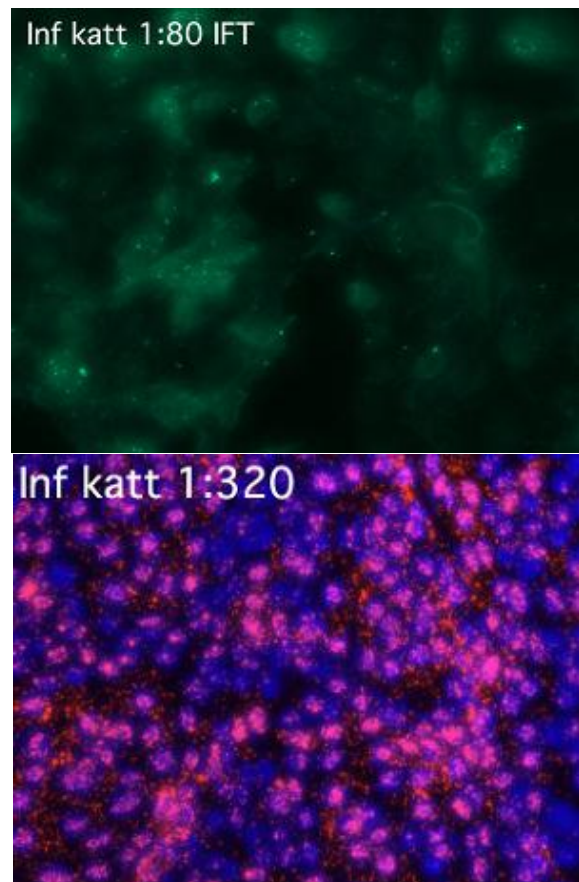
Med hjälp av närhetsligering har känsligheten för att påvisa antikroppar i blod- och ryggmärgsprov förbättrats avsevärt. Den nya metoden är minst tre gånger känsligare än den metod som används mest idag.

Den gängse metoden för att påvisa virus i hjärnvävnad har också förbättrats med hjälp av närhetsligering. Närhetsligering kan göra det lättare att skilja positiva prover från tveksamma prover. Det ökar säkerheten när diagnosen ställs.

Vi studerade även hur virusproteiner binder till proteiner i hjärna från sjuka djur. Viruset binder till ett protein som vid sjukdom bidrar till att öka inflammationen i hjärnan. Genom denna bindning tror vi att viruset lurar immunsystemet. Inflammationen minskar och viruset kan fortsätta att föröka sig. Bornavirus binder även till ett annat protein som är inblandat i celltillväxt. Viruset kan antagligen hindra cellernas normala tillväxt för att styra om cellen till att producera virus.

Metod

Bornavirus orsakar neurologisk sjukdom hos flera olika djur. Hästar och får drabbas av bornasjuka. Hos katter kallas sjukdomen för



Jämförelse mellan den tidigare använda metoden (överst) och närhetsligering (nederst). Närhetsligering är både tydligare och klarar mer utspädda prover.

vingelsjuka. Den så kallade ara-sjukan hos papegojfåglar orsakas också av bornavirus. I och med att virus infekterar hjärnan är det betydligt svårare att ställa en säker diagnos hos levande djur. I dagsläget ställs diagnosen bornavirusinfektion utifrån följande kriterier där samtliga ska vara uppfyllda:

- 1) kliniska symtom,
- 2) förekomst av antikroppar och/eller virus, samt
- 3) obduktionsfynd.

Vi har använt ovan nämnda närhetsligeringsmetod för att hitta antikroppar i blodprov och virus i hjärna.

Samma metod användes för att visa att viruset binder till proteiner från sjuka djur. Närhetsligerig är en ny metod som är mycket känslig och specifik. Med hjälp av denna metod kan man påvisa olika protein antingen ensamma eller bundna till andra proteiner för att på så sätt förstå hur sjukdom uppstår. Tidigare har det näst intill varit omöjligt att visa att proteiner binder till varandra i celler och vävnad.

Slutsats, råd till näringen, behov av vidare studier

I en allt mer global värld, där resor bland människor och djur ökar, kommer även risken öka för nya sjukdomar. I Sverige finns sedan länge vingelsjuka hos katt. Bornasjuka hos svenska hästar beskrevs för cirka tio år sedan. Det saknas emellertid fortfarande säker diagnostik av dessa bornavirusinfektioner. Vi tror att närhetsligerig förbättrar möjligheten att diagnostisera bornavirusinfektion hos levande djur i framtiden. En sådan möjlighet kan vara att säkrare och tidigare hitta antikroppar i blod- eller ryggmärgsprov hos sjuka djur.

Idag erbjuder inget svenskt laboratorium antikropsundersökningar avseende bornavirus. Djurägare och veterinärer hänvisas istället till Tyskland. En förfinad diagnostik som kan erbjudas vid ett svenskt laboratorium skulle öka tillgängligheten och kunskapen i Sverige. Dessutom skulle det ge tydligare och säkrare diagnosställande.

Närhetsligerig har öppnat upp nya möjligheter inom medicinsk forskning. Nu kan vi på ett enklare sätt studera proteinbindningar på plats i celler och vävnad hos sjuka djur. På så sätt kan vi få större kunskap om hur i vårt fall bornavirus infekterar hjärnan och varför sjukdom uppkommer. En kunskap som i framtiden kan leda till nya behandlingsmöjligheter.

Vetenskapliga referenser

Yan, J. 2010. Visualization of Borna disease virus and host-virus protein-protein interactions by in situ proximity ligation assay. Master of Science avhandling vid Uppsala universitet.

Wensman, J.J., Leuchowius, K.J., Berg, A.L., Bode, L., Ludwig, H., Belák, S., Landegren, U., Söderberg, O. & Berg, M. 2009. In situ proximity ligation assay for studying virus and pathogenesis. 8th International Congress of Veterinary Virology, Budapest, Ungern, 2009-08-23-26.

Det här projektet har fått anslag från Stiftelsen Hästforskning. Det här är en populärvetenskaplig sammanfattning av den slutrapport som forskarna skrivit efter forskningsprojektets slut. Mer information kan fås direkt från forskarna själva eller från Stiftelsen Hästforskning, www.hastforskning.se.