

Vísindadagur á Keldum 30. apríl 2010

Inngangur

Hefð er að skapast fyrir því að Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum haldi ráðstefnu annað hvert ár. Á ráðstefnunum hefur verið fjallað um rannsóknir á fræðasviðum stofnunarinnar með aðaláherslu á vísindastarfið sem unnið er á Tilraunastöðinni. Vísindadagur er nú haldinn í fjórða sinn, þeir fyrri voru árin 2002, 2004 og 2006. Árið 2008 var sextugasta starfsafmælisár Keldna og þá var haldin alþjóðleg ráðstefna um fisksjúkdóma og fiskaónæmisfræði. Eins og áður hefur ráðstefnuhefti með dagskrá og útdráttum erinda og veggspjalda verið fjölritað í tilefni vísindadagsins. Ráðstefnuheftið er aðgengilegt á heimasíðu Tilraunastöðvarinnar www.keldur.is

Vísindadagurinn er eins dags ráðstefna sem er opin öllum áhugasömum þeim að kostnaðarlausu. Starfsmenn Tilraunastöðvarinnar og nemendur í rannsóknámi eru með fyrirlestra um ýmis verkefni í prion-, veiru, bakteríu-, sníkjudýra-, sameinda- og ónæmisfræðum. Auk þess er veggspjaldasýning en þar verða kynnt fjölbreytileg verkefni á sömu fræðasviðum. Fyrirlesararnir sem skýra frá rannsóknaniðurstöðum og túlka þær eru margir hverjir með áratuga reynslu af vísindastarfi. Auk þess eru yngri vísindamenn, s.s. nemendur í rannsóknámi, með kynningu á verkefnum sínum en hlutur þeirra í starfi Tilraunastöðvarinnar hefur farið vaxandi á síðastliðnum árum. Erindi og veggspjöld vísindadagsins endurspeglar ágætlega fjölbreytilega starfsemi Tilraunastöðvarinnar. Samt sem áður er ekki mögulegt að kynna allar rannsóknir eða aðra starfsemi sem fram fer, en hægt er að kynna sér starfsemina nánar á heimasíðu stofnunarinnar. Eins og sést af dagsskránni hefur margt áunnist og kynntar verða rannsóknir sem eru í fremstu röð. Í því sambandi má nefna sérstaklega íslenskar rannsóknir á dýrasjúkdómum, sem margar hverjar hafa hotið alþjóðlegar viðurkenningar. Vegna einangrunar landsins er staða dýrasjúkdóma sérstök og tiltölulega auðvelt er að halda skráningu yfir þá. Á Íslandi eru vel skilgreindir dýrastofnar sem hafa annað næmi fyrir ýmsum sjúkdómum en gengur og gerist í heiminum. Rannsóknir á slíkum efnivið, sem byggir á ríkri hefð og sterkri sögu, hefur gefið Tilraunastöðinni sérstöðu. Vísindadagurinn er mikilvægur liður í að kynna viðkomandi rannsóknir fyrir ráðamönnum þjóðarinnar, háskólasamfélaginu, dýralæknum og íslensku samfélagi almennt. Einnig eflir dagurinn upplýsingastreymi innan Tilraunastöðvarinnar og það hvetur til aukins samráðs milli starfsmanna hennar og samstarfsaðila þeirra innanlands og erlendis.

Ég vil þakka Katrínu Jakobsdóttur mennta- og menningarmálaráðherra fyrir stuðning við vísindadaginn. Í vísindanefnd eru Birkir Þór Bragason, Sigríður Hjartardóttir og Valgerður Andrésdóttir og vil ég þakka þeim fyrir að skipuleggja daginn. Einnig vil ég þakka þeim sem studdu okkur fjárhagslega og þeim sem sáu um að veitingar væru fram bornar.

Sigurður Ingvarsson, forstöðumaður

Mynd á forsiðu: Mæði-visnuveirur (mynd: Guðmundur Georgsson)

		Dagskrá	
Tími		Fyrirlesari	Titill erindis
8:45-9:00		Katrín Jakobsdóttir mennta- og menningarmálaráðherra	Ráðstefna sett
9:00-9:25	Y-1	Bergljót Magnadóttir	Þróun sérvirka ónæmiskerfisins: Hvaðan og hvers vegna?
9:25-9:40	E-1	Sigríður Steinunn Auðunsdóttir	Rannsókn á genatjáningu í bráðasvari þorsks með rauntíma-PCR
9:40-9:55	E-2	Sigríður Guðmundsdóttir	Nýrnaveikibakterían í villtum urriða: greining í mismunandi vefjasýnum
9:55-10:10	E-3	Ívar Örn Árnason	Nýrnaveikibakterían í sýktum eldisklaxi: samanburður greiningaraðferða
10:10-10:25	E-4	Bryndís Björnsdóttir	Rannsókn á sýkingarmætti seytis fisksýkilsins <i>Moritella viscosa</i>
10:25-10:50		Kaffi og veggspjaldasýning	
10:50-11:15	Y-2	Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir	Rannsóknir á sýkingarmætti <i>Aeromonas salmonicida</i> subsp. <i>achromogenes</i> í fiski
11:15-11:30	E-5	Ólöf G. Sigurðardóttir	Barkabólga í sauðfé - brjósóbólga í barkakýli (laryngeal chondritis)
11:30-11:45	E-6	Stefanía Þorgeirsdóttir	Nor98 riða – helstu eiginleikar og faraldsfræði
11:45-12:00	E-7	Þórunn Rafnar Þorsteinsdóttir	Sýklalyfjaónæmi baktería í búfænaði á Íslandi - mögulegur flutningur til manna?
12:00-12:15	E-8	Karl Skirnisson	Um áður ókunnar tegundir sníkjudýra á Íslandi
12:15-13:15		Matur og veggspjaldasýning	
13:15-13:40	Y-3	Sigurbjörg Þorsteinsdóttir	Sumarexem í hestum, möguleikar á ónæmismeðferð
13:40-13:55	E-9	Heiða Sigurðardóttir	Einangrun og tjáning ofnæmisvaka úr smámýi (<i>Culicoides spp.</i>) sem orsakar sumarexem í hestum
13:55-14:10	E-10	Lilja Þorsteinsdóttir	Þróun á veirufurju til bólusetninga gegn sumarexemi í hestum
14:10-14:25	E-11	Sigríður Jónsdóttir	Einangrun og tjáning á hýaluronidasa, aðalofnæmisvaka í sumarexemi í hestum
14:25-14:40	E-12	Vilhjálmur Svansson	Inflúensa í svínum
14:50-15:10		Kaffi og veggspjaldasýning	
15:10-15:25	E-13	Birkir Þór Bragason	Rannsóknir á genatjáningu og meðhöndlun cystatin C í fibróblöstum <i>CST3-L68Q</i> arfbera
15:25-15:40	E-14	Ástríður Pálsdóttir	Eru utangenaerfðir að verki í arfgengri heilablæðingu?
15:40-15:55	E-15	Eydís Þórunn Guðmundsdóttir	Taugasækni mæði-visnuveirunnar
15:55-16:10	E-16	Harpa Lind Björnsdóttir	Lentiveiruhindrar
16:10-16:25	E-17	Stefán Ragnar Jónsson	Virgni og þróun APOBEC3 próteina
16:25-16:40	E-18	Sigurður Ingvarsson	Tjáning miRNA á mismunandi þroskastigum lifrar
		Sigurður Ingvarsson	Ráðstefnu slitið
16:40-17:30			Léttar veitingar

Erindi

8:45-9:00

Ráðstefna sett

Katrín Jakobsdóttir mennta- og menningarmálaráðherra

9:00-9:25 Yfirlitserindi

Þróun sérvirka ónæmiskerfisins: Hvaðan og hvers vegna?

Bergljót Magnadóttir

9:25-9:40 E-1

Rannsókn á genatjáningu í bráðasvari þorsks með rauntíma-PCR

Sigríður Steinunn Auðunsdóttir, Birkir Þór Bragason, Zophonías O. Jónsson og Bergljót Magnadóttir

9:40-9:55 E-2

Nýrnaveikibakterían í villtum urriða: greining í mismunandi vefjasýnum

Sigríður Guðmundsdóttir, Ívar Örn Árnason, Árni Kristmundsson og Diane Elliott

9:55-10:10 E-3

Nýrnaveikibakterían í sýktum eldisklaxi: samanburður greiningaraðferða

Ívar Örn Árnason, Sunna Sigurðardóttir, Árni Kristmundsson, Sigurður Helgason, Vilhjálmur Svansson og Sigríður Guðmundsdóttir

10:10-10:25 E-4

Rannsókn á sýkingarmætti seytils fisksýkilsins *Moritella viscosa*

Bryndís Björnsdóttir, Þórunn Guðmundsdóttir og Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir

10:25-10:50

Kaffi og veggspjaldasýning

10:50-11:15 Yfirlitserindi

Rannsóknir á sýkingarmætti *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* í fiski

Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir

11:15-11:30 E-5

Barkabólga í sauðfé - brjóskekkabólga í barkakýli (laryngeal chondritis)

Ólöf G. Sigurðardóttir

11:30-11:45 E-6

Nor98 riða – helstu eiginleikar og faraldsfræði

Stefanía Þorgeirsdóttir

11:45-12:00 E-7

Sýklalyfjaónæmi baktería í búfenaði á Íslandi - mögulegur flutningur til manna?

Þórunn Rafnar Þorsteinsdóttir, Gunnsteinn Haraldsson, Vala Friðriksdóttir, Karl G. Kristinsson og Eggert Gunnarsson

12:00-12:15 E-8

Um áður ókunnar tegundir snikjudýra á Íslandi

Karl Skirnisson, Alexander Galkin, Aneta Kostadinova, Berglind Guðmundsdóttir, Damien Jouet, Gergana Vasileva, Kirill V. Galaktionov, Libuse Kolarova, Sergei Mironov og Sólrún Þ. Þórarinsdóttir

12:15-13:15

Matur og veggspjaldasýning

13:15-13:40 Yfirlitserindi

Sumarexem í hestum, möguleikar á ónæmismeðferð

Sigurbjörg Þorsteinsdóttir

13:40-13:55 E-9

Einangrun og tjáning ofnæmisvaka úr smámýi (*Culicoides spp.*) sem orsakar sumarexem í hestum

Heiða Sigurðardóttir, Sigríður Jónsdóttir, Eliane Marti, Vilhjálmur Svansson og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir

13:55-14:10 E-10

Þróun á veirufurju til bólusetninga gegn sumarexemi í hestum

Lilja Þorsteinsdóttir, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir, Einar G. Torfason og Vilhjálmur Svansson

14:10-14:25 E-11

Einangrun og tjáning á hýalúronidasa, aðalofnæmisvaka í sumarexemi í hestum

Sigríður Jónsdóttir, Þórunn Sóley Björnsdóttir, Sigríður Kristín Rúnarsdóttir, Einar Mäntylä, Eliane Marti, Vilhjálmur Svansson og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir

14:25-14:40 E-12

Inflúensa í svínum

Vilhjálmur Svansson

14:50-15:10

Kaffi og veggspjaldasýning

15:10-15:25 E-13

Rannsóknir á genatjáningu og meðhöndlun cystatin C í fibróblöstum CST3-L68Q arfbera

Birkir Þór Bragason, Gustav Östner, Björn Þór Aðalsteinsson, Ásbjörg Ósk Snorraddóttir, Elías Ólafsson og Ástríður Pálsdóttir

15:25-15:40 E-14

Eru utangenaerfðir að verki í arfgengri heilablæðingu?

Ástríður Pálsdóttir, Birkir Þór Bragason, Gustav Östner, Björn Þór Aðalsteinsson, Ásbjörg Ósk Snorraddóttir og Elías Ólafsson

15:40-15:55 E-15

Taugasækni mæði-visnuveirunnar

Eydís Þórunn Guðmundsdóttir og Valgerður Andrésdóttir

15:55-16:10 E-16

Lentiveiruhindrar

Harpa Lind Björnsdóttir og Valgerður Andrésdóttir

16:10-16:25 E-17

Virkni og þróun APOBEC3 próteina

Stefán Ragnar Jónsson, Rebecca S. LaRue, Valgerður Andrésdóttir og Reuben S. Harris

16:25-16:40 E-18

Tjáning miRNA á mismunandi þroskastigum lifrar

Dong Liu, Jing Fan, Wanjiang Zeng, Yiwu Zhou, Sigurður Ingvarsson og Huiping Chen

16:40-17:30

Léttar veitingar

Veggspjöld

V-1

Vessabundin viðbrögð við fyrstu stigum bakteríusýkingar í þorski

Bergljót Magnadóttir, Sigríður Steinunn Auðunsdóttir, Berglind Gísladóttir, Birkir Þór Bragason og Sigríður Guðmundsdóttir

V-2

Icelandic Agricultural Sciences

Bjarni E. Guðleifsson, Bjarni Diðrik Sigurðsson og Sigurður Ingvarsson

V-3

MvP1 peptíðasi fisksýkilsins *Moritella viscosa* er vibriolysin og sýkipáttur

Bryndís Björnsdóttir, Ólafur H. Friðjónsson og Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir

V-4

Drug library screening - Targeting cystatin C dimerization, amyloid formation and cerebral hemorrhage

Gustav Ostner, Veronica Lindstrom, Ossur I Emilsson, Anders Grubb

V-5

Breytingar á hjúppróteini mæði-visnuveiru við náttúrulegar sýkingar

Hallgrímur Arnarson, Margrét Guðnadóttir og Valgerður Andrésdóttir

V-6

Breytileiki stofna gammaherpesveira í hestum á Íslandi

Lilja Þorsteinsdóttir, Einar G. Torfason, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir og Vilhjálmur Svansson

V-7

Lýs og mítlar á íslenskum nautgripum

Matthías Eydal og Sigurður H. Richter

Þróun sérvirka ónæmiskerfisins: Hvaðan og hvers vegna?

Bergljót Magnadóttir

Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Fyrirlesturinn er tileinkaður 150 ára afmæli þróunarkenningar Darwins 2009.

Síðan fyrstu frumdýr komu fram í þróunarsögunni fyrir um það bil billjón árum hafa lífverur þróast og greinst í fjölmargar fylkingar allt frá svampdýrum til hryggdýra. Svokölluð seildýr (chordata), forverar hryggdýra komu fram fyrir um 400 – 500 milljón árum (m.á.) en hin eiginlegu hryggdýr, sem síðan greindust í kjálkleysingja og kjálkadýr, komu fram fyrir um 300 m.á., til samanburðar er þróunarsaga mannsins aðeins um 1 m.á. gömul.

Allar dýrafylkingar hafa kerfi sem greinir eigin vefi og sameindir frá framandi og hugsanlega hættulegum sameindum eða sýklum og ver lífveruna m.a. gegn sýkingum og frumubreytingum. Þessi kerfi eru misflókin eftir stöðu fylkinganna í þróunarsögunni. Ónæmisfræðingar hafa skipt þessum kerfum í tvö meginkerfi: Annars vegar er svokallað ósérvirkt eða meðfætt ónæmiskerfi sem er til staðar hjá öllum dýrafylkingum og hins vegar sérvirkt eða áunnið ónæmiskerfi, sem eingöngu kjálkadýr hafa.

Grunnmunur er á þessum kerfum m.a. hvað varðar myndun, gerð og breytileika sértækra viðtaka eða nema sem greina framandi sameindir. Þannig byggir meðfædda ónæmiskerfið á þáttum sem eru tjáðir samkvæmt genamengi tegundarinnar (germline encoded) og eru óbreytanlegir en sérvirka ónæmiskerfið byggir á enn frekari breytileika sem á sér stað eftir frjóvgun og aðallega á fósturstigi (sOMATICALLY encoded).

Ýmislegt hefur valdið heilabrotum í sambandi við þessa skiptingu ónæmiskerfisins og hina, að því er virðist, skyndilegu þróun mótefnakerfisins úr 4 aðskildum en órjúfanlegum þáttum sem eru RAG ensímin, immunoglobulín stórfjölskyldan og eítílfrumur, vefjaflokkasameindir og sýnifrumur og loks týmus. Það er t.d. óljóst hvaðan þessir þættir koma, hvort þeir eigi sér hliðstæður í forverum kjálkadýra og hvað knúði á þessa þróun á þessum tímapunkti í þróunarsögunni.

Með uppgötvun Toll viðtaka í spendýrum og tengingu þeirra við sérvirka ónæmiskerfið hefur áhugi á gerð og hlutverk meðfædda ónæmiskerfisins fengið aukna athygli á allra síðustu árum. Í framhaldinu hafa nokkrar rannsóknir greint bæði meiri breytileika (jafnvel sómatískan breytileika) og einnig ónæmisminni hjá dýrum (hryggleysingjum) sem sannarlega hafa ekki mótefnakerfi. Skilin á milli meðfædda ónæmiskerfisins og mótefnakerfisins eru því að vissu leyti að verða óljósari hvað varðar gerð, virkni og samspil.

Rannsókn á genatjáningu í bráðasvari þorsks með rauntíma-PCR

Sigríður Steinunn Auðunsdóttir¹, Birkir Þór Bragason¹, Zophonías O. Jónsson² og Bergljót Magnadóttir¹

¹*Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

²*Líf- og umhverfisvísindadeild Háskóla Íslands, Öskju*

Bráðasvar er ónæmisviðbragð sem verður í kjölfar álags, áverka, sýkingar eða vefjabreytinga. Því getur fylgt breyting á styrk svokallaðra bráðaprótína í sermi og breyting á tjáningu sömu þátta í lifur. Dæmigerð bráðaprótín eru pentraxínin, CRP og SAP, sem taka þátt í viðgerð vefja, samvægi (homeostasis) og sjúkdómsvörnum. Tvær gerðir af CRP hafa greinst í þorski, CRP-PI og CRP-PII. Í þessu verkefni voru fyrstu viðbrögð þorsks við bráðaáreiti könnuð.

Bráðasvar var framkallað í þorski með því að sprauta terpentínu í vöðva. Nokkrum fiskum var lógað yfir 7 daga tímabil og sermi og líffærasýnum úr milta, nýrum og lifur safnað. Eftirfarandi greiningar voru gerðar á sermi: Prótín magn, cortisol magn, virkni náttúrulegra mótefna og magn pentraxína (CRP-PI og CRP-PII). Í líffærasýnum var tjáning mæld á eftirfarandi þáttum: CRP-PI, CRP-PII, transferríni og IL-1β.

Niðurstöður sýna að í kjölfar bráðasvars jókst magn cortisol í sermi og náði hámarki eftir 3 daga. Lítil breyting varð á öðrum þáttum í sermi. Marktæk aukning varð á tjáningu IL-1β og transferríni í milta. Einnig greindist í milta minnkuð tjáning á pentraxínunum. Í nýrum varð marktæk aukning á transferríni, CRP-PI og CRP-PII. Auk þess sem aukning varð á tjáningu IL-1β. Áhugaverður munur var á genatjáningu í milta og nýra.

Aukning á cortisol magni í sermi bendir til þess að um greinilegt bráðasvar hafi verið að ræða auk þess sem greinileg vefjabreyting sást á stungustað. Þrátt fyrir að breyting hafi orðið á tjáningu pentraxínanna CRP-PI og CRP-PII í milta og nýrum, er óvíst hvort hægt sé að telja þau eiginleg bráðaprótín í þorski þar sem lítil breyting varð á magni þeirra í sermi í kjölfar bráðsvarsins.

Nýrnaveikibakterían í villtum urriða: greining í mismunandi vefjasýnum

Sigríður Guðmundsdóttir¹, Ívar Örn Árnason¹, Árni Kristmundsson¹ og Diane Elliott²

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

²Western Fisheries Research Center, USGS, 6505 NE 65th St., Seattle, WA, USA

Inngangur:

Tilgangur rannsóknarinnar var að prófa ólíkar aðferðir til greiningar á nýrnaveikibakteríunni, *Renibacterium salmoninarum*, í sýnum teknum úr mismunandi líffærum urriða úr Elliðavatni. Enn fremur að auka þekkingu á útbreiðslu bakteríunnar í vistkerfi vatnsins.

Efni og aðferðir:

Urriði var veiddur í net í Elliðavatni í ágúst 2009. Fiskurinn var settur á ís og fluttur að Keldum, þar sem nýrnasýni voru tekin í rækt á SKDM-2 og í ELISA próf. Þá voru sýni úr nýra, milti, vélinda, görn og tálknboga sett í RNAlater og geymd við -20°C uns þau voru prófuð í nested-PCR og þremur mismunandi qPCR prófum.

Niðurstöður:

Urriðinn, sem var 5-8 ára, sýndi hvorki ytri né innri einkenni nýrnaveiki. Öll nýrnasýnin voru jákvæð í ELISA prófi, mörg með mjög há gildi, en bakterían ræktaðist ekki úr sýnunum. Mjög breytilegt var hve mörg og hvaða líffærasýni voru jákvæð í PCR prófunum en tveir fiskar af 28 voru neikvæðir í öllum PCR prófum, í öllum líffærasýnum. Flest jákvæð PCR próf komu fram í milti. Ekki var augljóst samhengi milli PCR niðurstaðna og ELISA gilda.

Ályktanir og umræður:

Allir fiskarnir greindust jákvæðir í einhverju prófanna og ætla má að urriðastofninn sé stöðug uppspretta smits í vistkerfi Elliðavatns og þar með Elliðaáa. Milti reyndist heppilegast til PCR greininga, en mikið ósamræmi kom fram milli ólíkra PCR aðferða.

Nýrnaveikibakterían í sýktum eldisklaklaxi: samanburður greiningaraðferða

Ívar Örn Árnason¹, Sunna Sigurðardóttir², Árni Kristmundsson¹, Sigurður Helgason¹, Vilhjálmur Svansson¹ og Sigríður Guðmundsdóttir¹

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

²Lífefna- og sameindalíffræðistofa Háskóla Íslands, Læknagarði

Skimun fyrir *Renibacterium salmoninarum*, bakteríunni sem veldur nýrnaveiki í laxfiskum, er oftast framkvæmd með ELISA prófi sem nemur mótefnavaka bakteríunnar. Til að staðfesta jákvætt svar, í áður ósýktri eldisstöð, þarf að nota ólíka aðferð. Alþjóða dýraheilbrigðisstofnunin mælir með nested PCR til staðfestingar.

Megin markmið verkefnisins var að þróa nýja PCR aðferð, semi-nested PCR, og bera saman við nested PCR og ýmsar aðrar aðferðir til greiningar á *Renibacterium salmoninarum*. Einnig var prófuð ný aðferð til að einangra DNA úr sýnum og hún var borin saman við hefðbundna DNA einangrunar-aðferð.

Tvær ELISA aðferðir voru bornar saman, önnur notaði fjölstofna mótefni, pELISA, og hin þar sem einstofna mótefni voru notuð, mELISA. Fjórar mismunandi PCR aðferðir voru prófaðar, þ.e. semi-nested PCR, nested PCR, qPCR og RT-qPCR. Tvö mismunandi gen voru mögnuð upp í qPCR og RT-qPCR. Í nested PCR voru notaðir 4 prímerar sem framleiddu 2 mismunandi afurðir í aðskildum hvörfum. Afurðinni úr fyrra hvarfinu, sem var framleitt úr einu prímerapari, var flutt í glas með seinna prímeraparinu og ný afurð mynduð út frá þeirri fyrri. Við flutninginn myndaðist mengunarhætta. Í semi-nested PCR voru notaðir 3 prímerar sem framleiddu 2 mismunandi afurðir en í sama PCR hvarfi. Ekki þurfti að flytja afurðir á milli hvarfa sem minnkaði þ.a.l. mengunarhættuna. Prófuð var DNA einangrunaraðferð þar sem sýni eru sett á pappír sem inniheldur ensím til að brjóta niður frumuveggi og dúa til að varðveita kjarnsýrurnar. Lítill bútur var klipptur úr pappírnum sem innihélt sýnið og settur í PCR glas. Búturinn var þveginn og þurrkaður áður en hann var notaður sem DNA mót fyrir PCR hvarf. Hefðbundin einangrunaraðferð var höfð til samanburðar (kitt frá Puregene).

pELISA aðferðin greindi flest jákvæð sýni í sýnahópnum en mELISA aðferðin greindi fæst. Nýja DNA einangrunaraðferðin reyndist gefa fleiri jákvæð sýni í PCR samanborið við hina hefðbundnu einangrunaraðferð. Semi-nested- og nested PCR námu fleiri jákvæð sýni en bæði qPCR og RT-qPCR.

Rannsókn á sýkingarmætti seytis fisksýkilsins *Moritella viscosa*

Bryndís Björnsdóttir, Þórunn Guðmundsdóttir og Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Inngangur:

Bakterían *Moritella viscosa* veldur vetrarsárum í eldisfiski sem alinn er í sjó við lágt hitastig. Sjúkdómurinn veldur umtalsverðu verðmætatapi í eldi, einkum í laxeldi. Unnið er að þróun bættra bóluefna gegn bakteríunni. Fátt er enn vitað um sýkingarmátt *M. viscosa* en sýnt hefur verið fram á að seyti hennar er banvænt laxi og veldur öllum helstu innri einkennum sjúkdómsins, svo sem blæðingum, vefjadrepi og myndun kviðarholsvökva. Markmið rannsóknarinnar var að bera saman sýkingarmátt og eiturvirkni seytis mismunandi *M. viscosa* stofna og skoða að auki aðra þætti í seyti, t.d. ensímvirkni.

Efni og aðferðir:

Framleitt var seyti 22ja *M. viscosa* stofna sem einangraðir voru úr ýmsum fisktegundum frá mismunandi löndum. Geta seyta til að drepa laxaseiði, rjúfa frumur í rækt og rjúfa rauð blóðkorn laxa og kinda var metin. Einnig var ýmis ensímvirkni, próteinstyrkur og siderofóru framleiðsla seyta borin saman.

Niðurstöður:

Greindir voru tveir ósýkingarhæfir stofnar sem einangraðir voru úr kanadískum löxum og var seyti þessara tveggja stofna ekki banvænt laxi. Samræmi reyndist vera á milli hýsiluppruna stofna og frumu- og blóðkornarofsvirkni viðkomandi seyta. Seyti stofna sem einangraðir voru úr laxi voru með lægri frumu- og blóðkornarofsvirkni en seyti stofna sem voru einangraðir úr öðrum fisktegundum. Ekki var samræmi milli drápsvirkni seyta og frumu- og blóðkornarofsvirkni þeirra. Mismunandi ensímvirkni, próteinstyrk eða siderofóru framleiðslu seyta var ekki hægt að tengja við dráps- eða eiturvirkni þeirra.

Ályktanir:

Hugsanlegt er að sama/sömu bakteríuafurðirnar valdi frumu- og blóðkornarofsvirkni seyta, þar sem góð samsvörun var á milli þessara þátta í öllum seytum. Hins vegar getur frumu- og blóðkornarofsvirkni seytis ekki verið notuð til að spá fyrir um hvort viðkomandi seyti er banvænt laxi. Ósýkingarhæfu stofnarnir sem greindust í rannsókninni gætu verið nytsamlegir til frekari rannsókna á sýkingarmætti bakteríunnar. Ekki hafa enn verið borin kennsl á megin sýkiþætti í seyti *M. viscosa*.

Rannsóknir á sýkingarmætti *Aeromonas salmonicida* subsp. *achromogenes* í fiski

Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Gram-neikvæðar bakteríur af ættkvíslinni *Aeromonas* lifa í söltu og ósöltu vatni. Tegundin *A. hydrophila* (Ah) sýkir bæði spendýr og fiska og er því mjög ósérhæfður sýkill.

Kýlaveikibróðurbakterían *A. salmonicida* undirteg. *achromogenes* (Asa) sýkir fjölmargar tegundir fiska en ekki spendýr. *A. salmonicida* undirteg. *salmonicida* (Ass) sýkir laxfiska og sandhverfu og síðan eru til stofnar af *A. salmonicida* (aAs), sem aðeins sýkja nokkrar tegundir laxfiska en ekki aðrar. Sýklalyfjapól sýkjandi baktería er vaxandi ógn. Slíkt þol getur borist á milli ólíkra bakteríutegunda í umhverfinu. Fiskeldi verður sífellt mikilvægara þar sem prótein á hverja næringareiningu er hærra í því en í nokkurri annarri matvælaframleiðslu. Helmingur allra fiskafurða í veröldinni í dag á uppruna í fiskeldi. Ýmsar stofnanir hafa áætlað að um 50% afföll séu í fiskeldi vegna sýkinga. Því er mikilvægt að þróaðar verði nýjar umhverfsvænar forvarnir gegn sýkingum í fiskeldi. Forsenda slíkra forvarna er ítarleg þekking á líffræði sýkla og hýsla þeirra. Búið er að heilraðgreina bæði Ass og Ah, lax og þorsk, en það auðveldar mjög rannsóknir á sýkingarmætti þessara baktería í fiski.

A. salmonicida undirteg. *achromogenes* (Asa) er sá sýkill sem mestum skaða hefur valdið í íslensku fiskeldi. Á Keldum hafa um árabíl verið stundaðar rannsóknir á eiginleikum Asa sem sýkils og forvörnum gegn sýkingum. Rannsóknirnar hafa beinst að því að einangra og lýsa sýkipáttum, rannsaka hýsil sýkil samskipti í Asa sýktum fiski og meta eiginleika mismunandi mótefnavaka bakteríunnar til að mynda mótefnavörn í mismunandi fisktegundum, aðallega laxfiskum og þorski.

Gerð hafa verið tilraunabóluefni og virkni þeirra í mismunandi fisktegundum könnuð í tilraunasýkingum. Bólusetningar gegn Asa hafa borið árangur í sumum tegundum fiska en ekki öðrum. Nú er unnið að því að framleiða fýðurbóluefni sem inniheldur Asa mótefnavaka tengda burðarpróteini.

Bakteríur hafa áhrif á vöxt og efnaskipti hverra annarra. Margar Gram-neikvæðar bakteríur nota þéttiskynjun með „acylated homoserine lactones“ (AHLs), sem eru smásameindir sem bakterían seytir. Þessi merkjasamskipti gera þeim kleift að stjórna genatjáningu og geta líka haft áhrif á genatjáningu hýsilsins. Til eru AHL hermar sem hindra þéttiskynjun á sértækan hátt (AHLH). Unnið hefur verið að rannsóknum á þéttiskynjun Asa og áhrifum þéttiskynjunar á sýkingarmátt bakteríunnar. Áhrif AHLH á sýkingarmátt Asa hafa einnig verið könnuð.

Í fyrlestrinum verður greint frá helstu niðurstöðum rannsókna á sýkingarmætti Asa, sem gerðar hafa verið á Keldum á síðustu árum og fyrirhuguðum næstu skrefum.

Barkabólga í sauðfé - brjóskbólga í barkakýli (laryngeal chondritis)

*Ólöf G. Sigurðardóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Undanfarin 3-4 ár hefur komið í krufningu á Tilraunastöðina fullorðið sauðfé með einkenni frá öndunarvegi, þ.e. hósta og andnað. Frá því í maí 2007 til dagsins í dag (apríl 2010) hafa 12 kindur frá 7 bæjum komið í krufningu, aðallega frá Suður- og Suðvesturlandi. Í sumum tilfellum hefur meðhöndlun með sýklalyfjum og sterum gefið bata um tíma, en einkennin hafa komið aftur fram nokkru eftir að meðhöndlun hefur verið hætt og dýrin snögg-drepist. Sjúkdómurinn hefur einkum hrjád hrúta en einnig hafa ær greinst með hann. Á sumum bæjum hafa margar skepnur drepist með sömu einkenni.

Við krufningu sést bólga og bjúgur í barkakýlisloki (epiglottis). Við opnun á barkakýlinu hefur komið í ljós bólga og drep í barkakýlisbrjóski. Í sumum tilfellum var mikil froða í barka og bjúgur í lungum, og höfðu dýrin kafnað vegna þrengsla í öndunarvegi. Dreifing sýkingar hafði átt sér stað í sumum langvarandi tilfellum með graftabólgukeyli í lungum og kokeitlum.

Margar tegundir baktería ræktuðust úr barkakýli, oftast í blandaðri flóru. Bakteríur sem greinst hafa eru umhverfisbakteríur eða bakteríur sem eru hluti af náttúrulegri flóru slímhúðar í öndunar- og meltingarvegi.

Brjóskbólga í barkakýli hefur greinst m.a. í kálfum og í sauðfé, en er einna best þekkt í hrossum. Ýmsar getgátur hafa verið uppi varðandi orsök brjóskbólgunnar í þessum dýrategundum. Meðal hugsanlegra orsakavalda hefur verið nefnt mekanískur áverki við öndun, fleiður orsakað af stráum, og áverki við meðalaskömmun (drenching) eða pípuinnsetningu (intubation). Getgátur um að gjafagrindur komi við sögu hjá kindum hafa verið til umræðu en óvíst er hvort hægt væri að sjá ummerki um slíka áverka við krufningu.

Nor98 riða – helstu eiginleikar og faraldsfræði

*Stefanía Þorgeirsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Fyrir um tíu árum kom upp óvenjuleg tegund riðu í Noregi, sem var síðar kölluð Nor98. Þessi tegund riðu hefur verið flokkuð sem óhefðbundin riða (atypical scrapie) ásamt fleiri tilfellum sem hafa greinst í flestum löndum Evrópu og víðar á undanfönum árum. Helstu einkenni þessa riðuafriggðis eru önnur dreifing vefjaskemmda og uppsöfnunar smitefnis í heila miðað við hefðbundna eða klassíska riðu. Þessi riðutilfelli greinast oft í eldra fé og oftast er bara um eina jákvæða kind að ræða í hverri hjörð. Auk þess bera þessi tilfelli aðrar PrP arfgerðir en þær sem hafa hingað til verið tengdar áhættu fyrir riðu (1).

Þessi tegund riðu virðist lítið eða ekkert smitandi og ýmislegt bendir til að þar geti verið um að ræða nokkurs konar “sjálfsprottinn” sjúkdóm, þ.e. án utanaðkomandi smits, svipað og í tilviki sporadic Creutzfeldt Jakob sjúkdómi (CJD) í mönnum. Til dæmis sýnir nýleg rannsókn meðal ellefu Evrópulanda að það eru ekki meiri líkur á að finna fleiri jákvæðar kindur í hjörðum þar sem hefur greinst óhefðbundin riða (Nor98) heldur en ef tekið er tilviljanakennt úrtak úr hópi heilbrigðra kindra (2).

Alls hefur Nor98 riðuafriggðið greinst á þremur bæjum hér á landi. Fyrsta tilfellið greindist við skimun á heilbrigðu sláturfé haustið 2004, en hin tilfelli greindust 2007 og 2008, hvorugtveggi í kindum með sjúkdómseinkennum. Fyrstu tvö tilfelli voru á Suðurlandi en þriðja tilfellið var á svæði á Norðurlandi Vestra (Miðfjarðarhólfi), þar sem riða hafði ekki greinst áður. Eftir niðurskurð var skimað fyrir riðusmitemfinu í riðuhjörðunum og í einni hjörðinni fannst eitt jákvætt sýni til viðbótar. Það, líkt og hin sýnin, sýndi 11-12 kDa band á próteinþrykki, eitt einkenna Nor98 riðu. Hafa því fundist tvö jákvæð sýni í einni Nor98 hjörð á Íslandi sem er sjaldgæft í tilfellum sem þessum. Skoðun arfgerða þríongensins sýndi að öll Nor98 tilfelli báru histidín í tákna 154, sem er einkennandi fyrir slík riðuafriggði. Sú arfgerð sem fannst í Nor98 tilfellunum, AHQ, hefur verið tengd þoli gagnvart hefðbundinni riðu í íslensku fé, en VRQ er áhættuarfgerð hefðbundinnar riðu (3).

Íslensku Nor98 tilfelli eru lík svipuðum tilfellum sem finnast erlendis, bæði hvað varðar arfgerðir þríongensins og próteinprófil smitefnisins. Hins vegar er sjaldgæft að finna tvö tilfelli í sömu hjörðinni í þessari gerð riðu eins og raunin var hér í einu tilfelli.

(1) Benestad, S.L., Arzac, J-N., Goldmann, W. And Nöremark, M. 2008. Atypical/Nor98 scrapie: properties of the agent, genetics, and epidemiology. *Vet. Res.* 39:19, 14 p.

(2) Fediaevsky, A., Maurella, C., Nöremark, M., Ingravalle, F., Þorgeirsdóttir, S., Orge, L., Poizat, R., Hautaniemi, M., Liam, B., Calavas, D., Ru, G. and Hopp, P. 2010. The prevalence of atypical scrapie in sheep from positive flocks is not higher than in the general sheep population in 11 European countries. *BMC veterinary research* 2010, 6:9

(3) Þorgeirsdóttir, S., Sigurdarson, S., Thorisson, H.M., Georgsson, G. and Palsdóttir, A. 1999. PrP gene polymorphism and natural scrapie in Icelandic sheep. *J. Gen. Virol.* 80: 2527-2534.

Sýklalyfjaónæmi baktería í búfénaði á Íslandi - mögulegur flutningur til manna?

Dórunn Rafnar Þorsteinsdóttir¹, Gunnsteinn Haraldsson², Vala Friðriksdóttir¹, Karl G. Kristinsson² og Eggert Gunnarsson¹

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

²Sýklafræðideild, Landspítali Háskólasjúkrahús

Tíðni baktería sem eru ónæmar fyrir sýklalyfjum fer vaxandi, bæði meðal manna og dýra og getur valdið vandkvæðum við meðhöndlun sýkinga. Víða erlendis hefur verið fylgst með tíðni ónæmra baktería í sláturdýrum og matvælum en lítið hefur verið vitað um algengi hér á Íslandi. Megin markmið þessarar rannsóknar var að ákvarða tíðni ónæmra *Escherichia coli* í sláturdýrum á Íslandi og meta hvort og í hve miklum mæli þessar bakteríur berast frá dýrum til manna, þá aðallega með matvælum.

Rannsakaðir voru 482 stofnar af *E. coli*, sem einangraðir voru úr svínum, kjúklingum, svínakjöti, kjúklingakjöti, kjúklingafóðri, starfsmönnum sláturhúsa og sjúklingum utan sjúkrahúsa á árunum 2005-2008. Val stofna var með tilliti til þess að þeir endurspegluðu þýðið á öllu landinu. Allir stofnar voru næmisprófaðir með míkro-seyðis þynningar aðferð (VetMIC) og skyldleiki ónæmra stofna var borinn saman með Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) og Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD).

Tíðni ónæmra *E. coli* stofna var 54.1% og 28% (botnlanga- og kjötsýni) í svínum, 33.6% og 52% í kjúklingum (botnlanga- og kjötsýni), 31.8% í kjúklingafóðri, 39.1% í sláturhúsastarfsmönnum og 23.1% í sjúklingum utan sjúkrahúsa. Tíðni ónæmis fyrir cíprófloxacin og nalidixic sýru jókst milli sýnatöku tímabilanna 2005-2007 og 2008 ($p < 0.0001$) en tíðni ónæmis fyrir öðrum sýklalyfjum lækkaði. Meirihluti (78.6%) ónæmra *E. coli* stofna var með ólík PFGE mynstur og lítið var um þyrpingar skyldra stofna. Þó einangruðust stofnar með sama ónæmismynstur og PFGE mynstur úr kjúklingakjöti og starfsmanni sláturhúss og enn fremur fundust mjög skyldir stofnar í mönnum, kjúklingum, kjúklingakjöti og kjúklingafóðri.

Tíðni sýklalyfjaónæmis meðal *E. coli* stofna úr sláturdýrum og matvælum var meðalhá eða há, sérstaklega í kjúklingum og kjúklingakjöti. Athygli vakti að ónæmi fannst fyrir flúórókínólónum, þar á meðal í stofnum úr kjúklingum og kjúklingakjöti, en engin sýklalyf eru notuð í kjúklingaeldi á Íslandi. Þyrpingar stofna af mismunandi uppruna sem hafa eins eða lík PFGE og ónæmismynstur gefa vísbendingar um flutning sýklalyfjaónæmra *E. coli* stofna frá dýrum til manna. Fjölbreytni í ónæmismynstrum og PFGE mynstrum þykir benda til þess að stórt þýði ónæmra *E. coli* sé að finna í sláturdýrum á Íslandi. Niðurstöður þessarar rannsóknar styðja þá tilgátu að ónæmar bakteríur berist með fóðri í kjúklinga og að kjúklingar og afurðir þeirra séu uppspretta flúórókínólóna ónæmra *E. coli* stofna í mönnum. Áframhaldandi eftirlit er mikilvægt og nauðsynlegt er að rannsaka betur uppruna ónæmra klóna og mögulegan flutning þeirra til manna.

Um áður ókunnar tegundir sníkjudýra á Íslandi

*Karl Skírnisson*¹, *Alexander Galkin*², *Aneta Kostadinova*³, *Berglind Guðmundsdóttir*¹,
*Damien Jouet*⁴, *Gergana Vasileva*³, *Kirill V. Galaktionov*², *Libuse Kolarova*⁵, *Sergei Mironov*² og
*Sólrún Þ. Þórarinsdóttir*¹

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ²Rússnesku Vísindaakademiunni í Pétursborg, ³Búlgörsku vísindaakademiunni í Sófíu, ⁴Háskólanum í Reims í Frakklandi, ⁵Háskólanum í Prag í Tékkalandi

Undanfarin ár og áratugi hafa margvíslegar rannsóknir verið gerðar á sníkjudýrafánu landsins. Finnist áður óþekktar tegundir er oft leitað liðsinnis hjá erlendum samverkamönnum. Hér eru taldar saman áður óþekktar tegundir sníkjudýra sem fyrsti höfundur hefur, ásamt samverkafólki, fundið við rannsóknir á Íslandi undanfarinn áratug. Í þeim hópi eru 13 tegundir sem lokið hefur verið við að lýsa og búið að birta lýsingarnar á. Þá eru fjórar tegundir til viðbótar nefndar sem ekki hefur enn verið lokið við að lýsa. Og að endingu eru nefndar þrjár áður þekktar tegundir sem allar voru samt það illa skilgreindar að nauðsyn bar til að endurlýsa þeim. Því verki er lokið.

Fimm sníkjudýranna eru einfrumungar (Protozoa), allt hníslar (Coccidia: *Eimeria*). Tveir þeirra, *Eimeria rangiferis* og *E. hreindyria* fundust á árunum 2003 og 2004 við rannsóknir á hreindýrum (*Rangifer tarandus*). Einnig fannst þá hnísillinn *E. mayeri*. Sá hafði áður fundist í hreindýrum í Rússlandi en þar sem lýsingin var ófullkominn var tegundinni endurlýst. Hinar hníslategundirnar eru *E. muta* og *E. rjupa*. Báðar fundust við rannsóknir á rjúpu (*Lagopus muta*).

Þrjár tegundanna eru bandormar (Cestoda). Lokið hefur verið við lýsingu *Confluaria islandica* en sú er algeng í flórgoða *Podiceps auritus* á Mývatni. Annari tegund var endurlýst, *Microsomacanthus diorchis*. Hún snikir í æðarfugli *Somateria mollissima* og hafði fyrst verið lýst úr æðarfuglum sem fangaðir voru 1907 á Eyjafirði. Þá er verið að vinna að endurlýsingu bandormsins *Passerilepis serpentulus* en hann hefur fundist í rjúpuungum.

Ögðutegundirnar (Digenea) eru átta. Sú fyrstnefnda, *Petasiger islandicus*, er algeng í iðrum flógoða á Mývatni og nýverið fannst svo lifrustig tegundarinnar í snúðbobbum *Gyraulus* sp. í Ytriflóa Mývatns. Blóðagðan *Allobilharzia visceralis* er algeng í álfutum *Cygnus cygnus* sem snúa til landsins frá vetrarstöðvunum. Tegundin hafði slíka sérstöðu útlitslega séð að henni var lýst innan nýrrar ættkvíslar. Ekki er vitað hver millihýsill tegundarinnar er erlendis. Þriðja tegundin er *Microphallus breviatus*, lítil agða sem fundist hafði á lifrustigi í kynkirtlum stranddoppu *Hydrobia ventrosa*. Fullorðinsstiginu var lýst eftir að lifran hafði verið látin þroskast í sýkingartilraun á Keldum. Fjórdða agðan er einungis þekkt á lifrustigi undir nafninu *Cercaria islandica* I. Hún tilheyrir ættinni Microphallidae og hefur fundist hér í fjörudoppunum *Littorina obtusata* og *L. mariae*. Sú er talin lifa fullorðin í einhverjum vaðfugli. Að endingu skulu nefndar lýsingar, eða endurlýsingar, mislangt á veg komnar, á fjórum tegundum blóðagða af ættkvíslinni *Trichobilharzia* (Schistosomatidae).

Þegar farið var að rannsaka óværu rjúpu *Lagopus muta* með skipulegum hætti fundust fjórar áður óþekktar mítlategundir (Acari: Astigmata). Ein þeirra (*Tetraolichus lagopi*) lifir milli fana á væng, önnur í dúninum (*Strelkoviacarus holoaspis*); sú þriðja, *Metamicrolichus islandicus*, á og í húðinni en búsvæði lúsflugumítilsins *Myialges borealis* er enn að mestu órannsakað. Fimmta mítlategundin (Acari: Prostigmata) fannst síðar. Sú eyðir ævinni að mestu inni í fjaðurstöfum á væng rjúpna og er lýsing tegundarinnar í undirbúningi.

Flestar ofantalinna sníkjudýra eru einnig taldar lifa í nágrannalöndunum en þó er talið að ormarnir sem fundust í flórgoðanum gætu verið einlendir (e: *endemic*), það er bundnir við íslenskan stofn þessarar tiltölulega einangruðu fuglategundar.

Sumarexem í hestum, möguleikar á ónæmismeðferð

*Sigurbjörg Þorsteinsdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Sumarexem er ofnæmi gegn prótínunum sem berast í hross við bit mýflugna af ættkvíslinni *Culicoides* (smámý), en tegundir af þeirri ættkvísl lifa ekki hér á landi. Hross af öllum kynjum geta fengið ofnæmið en það er sérstaklega algengt í íslenskum hrossum sem flutt hafa verið úr landi. Um helmingur útfluttra hrossa sem hafa verið tvö ár eða lengur á flugusvæðum fá sumarexem ef ekkert er gert til að verja þau flugnabiti. Íslensk hross sem fædd eru erlendis virðast ekki í meiri hættu á að fá sumarexem en hross af öðrum kynjum.

Sumarexemverkefnið er samvinnuverkefni milli Keldna og Dýrasjúkdómadeildar háskólans í Bern í Sviss, sem hófst árið 2000 og er markmið þess þríþætt: Finna og greina prótínin sem valda ofnæminu, rannsaka ónæmissvarið og feril sjúkdómsins, þróa ónæmismeðferð bólusetningu eða afnæmingu. Við teljum okkur hafa einangrað og tjáð flesta þá ofnæmisvaka sem eru í bitkirlum flugnanna og valda sumarexemi. Rannsóknir okkar á ónæmisferlunum benda til að boðefnastjórnun eða ójafnvægi milli Th1, Th2 og T-stjórnfruma leiki stórt hlutverk í sjúkdómnum. Því ætti að vera mögulegt að meðhöndla ofnæmið eða koma í veg fyrir það með því að hliðra ónæmissvarinu í átt að Th1 svari og efla sérvirkt T-stjórnfrumusvar gegn ofnæmisvökunum.

Þrjár leiðir verða reyndar til að þróa ónæmismeðferð: 1) *Bólusetja/afnæma með hreinum ofnæmisvökum í ónæmisglæði.* Notaðir verða Th1 stýrandi ónæmisglæðar af nýrri kynslóð, og til þess nota megi minni skammta og til að flýta svarinu verða reyndar bólusetningar í eitla og í húð. Fyrri tilraunir með sprautun undir húð og í vöðva gáfu ekki viðunandi niðurstöður. 2) *Bólusetja/afnæma með ofnæmisvakagenum á veirufurjum.* Genabólusetningar með tjáningarferjum með mismunandi CpG röðum gáfu ekki nægilega sterk ónæmissvör í hestum því er verið að útbúa mun öflugri ferjur þar sem notaðar eru tvær ólíkar veirur; equine gammaherpesveira-2 (EHV-2) sem sýkir hross og baculoveira sem er skordýraveira notuð til að tjá ofnæmisvakana í skordýrafrumum. Gerðar verða tilraunabólusetningar með ofnæmisvakagenum á veirufurjum í eitil eða í húð samkvæmt niðurstöðum úr prótínbólusetningum. Nú þegar eru notuð genabóluefni í hross sem byggja á canarypoxveiru. 3) *Bólusetja/afnæma um slímhúð meltingarveggar með því að fódra hesta á byggi sem tjáir ofnæmisvakana.* Í samvinnu við ORF Líftækni er verið að tjá tvo ofnæmisvaka í byggi. Ef byggframleiddu prótínin eru virkir ofnæmisvakar þá verður reynt að afnæma hross með því að fódra þá á byggi sem tjáir vakana.

Einangrun og tjáning ofnæmisvaka úr smámýi (*Culicoides spp.*) sem orsakar sumarexem í hestum

Heiða Sigurðardóttir¹, Sigríður Jónsdóttir¹, Eliane Marti², Vilhjálmur Svansson¹ og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir¹

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

²Department of Clinical Research, Vetsuisse Faculty, University of Bern, Bern, Sviss

Sumarexem er ofnæmi (Type I hypersensitivity) gegn próteinum sem berast í hross við bit smámýs, en tegundir af þessari ættkvísl lifa ekki hér á landi. Öll hrossakyn geta fengið ofnæmið en það er mjög algengt í íslenskum hestum sem fluttir hafa verið úr landi. Um helmingur útfluttra hrossa sem hafa verið 2 ár eða lengur á flugusvæðum fá sumarexem ef ekkert er gert til að verja þá flugnabiti [1]. Íslenskir hestar sem fæddir eru erlendis fá ofnæmið í mun minna mæli ($\leq 10\%$). Það hafa verið einangruð 15 gen líklegra ofnæmisvaka úr flugnabitkirtlum og prótein tjáð í *E. coli*. Tveir af þessum vökum eru cul-nub-A21 og cul-nub-C4. Cul-nub-A21 skráir fyrir óþekktu próteini en inniheldur hneppi (domain) sem hefur samsvörun við svokölluð penaeidin-peptíð sem eru flokkur cysteinríkra, sýkladrepandi peptíða í rækjum. Cul-nub-C4 er genaröð sem var veidd upp úr *Culicoides nubeculosus* yfirborðsfögugenasafni með bindingu við IgE úr sumarexemhestum. Genaröðin hefur samsvörun við genaröðina EU978914 sem skráir fyrir óþekktu próteini CNSG79. Markmiðið er að einangra og raðgreina að fullu cul-nub-A21 og cul-nub-C4, tjá þau í skordýrafrumum og hreinsa próteinin. Einnig að setja V5 tjáningarmarki á pFastBack HT ferju sem er notuð við tjáningu próteina í skordýrafrumum.

Notað var λZAP II cDNA safn úr bitkirtlum *C. nubeculosus* (GATC Biotechnology, Germany). Genamögnun með PCR og raðgreining með BigDye v3.1 (Applied Biosystems). Genin voru límd inn í pFastBac HT ferju í *E. coli* stofninum DH5α. Til þess að fá rétt umbrot og sykrun verða genin tjáð í skordýrafrumum (Sf-9) með Baculoveirukerfi (Bac-To-Bac, Invitrogen) og próteinafurðirnar hreinsaðar.

V5 merki hali fenginn úr pcDNA3.1/V5-His B ferjunni var settur inná pFastBac HT ferjuna til að auðvelda próteingreiningu. Raðgreint var yfir svæðið til að staðfesta að það væri rétt. Cul-nub-A21 og cul-nub-C4 genin voru mögnuð upp úr lambdagenasafninu, límd inn í pFastBac HT/V5 ferjuna og raðgreind. Cul-nub-A21 genið reyndist vera 1218 bp og hefur samsvörun við birtu *C. sonorensis* röðina AY603639 [2]. Cul-nub-C4 genið reyndist vera í heildina 1254 bp og hefur samsvörun við birtu röðina EU978914. Bæði genin hafa verið ummynduð í DH10Bac frumur með baculoveirukerfi og innleiddar í SF-9 skordýrafrumum. Hlutar af cul-nub-A21 og cul-nub-C4 voru tjáðir í *E. coli* af samstarfsaðilum okkar í Sviss og fjölstofna mót efni voru framleidd gegn hlutapróteinunum í músum.

Styrktaraðilar verkefnis: Rannsóknasjóður Háskóla Íslands, Framleiðnisjóður Landbúnaðarins.

[1] Björnsdóttir, S., et al., 2006. Acta Vet Scand. 48(1): p. 3.

[2] Campbell, C.L., et al., 2005. Insect Molecular Biology. 14(2): p. 121-36.

Þróun á veirufurju til bólusetninga gegn sumarexemi í hestum

Lilja Þorsteinsdóttir¹, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir¹, Einar G. Torfason² og Vilhjálmur Svansson¹
¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum
²Rannsóknastofa í veirufræði, Landspítali Háskólasjúkrahús

Inngangur:

Sumarexem (SE) er húðofnæmi í hestum sem orsakast af biti smámýs sem ekki lifir á Íslandi. Tíðni sjúkdómsins er mjög há í útfluttum hestum. Á Keldum er unnið að rannsóknum á sumarexemi í samstarfi við Háskólann í Bern í Sviss. Endanlegt markmið er að þróa ónæmismedferð gegn exeminu. Fimmtán ofnæmisvakagen hafa verið einangruð, raðgreind og próteinin tjáð. Þar með er hægt að þróa og prófa bæði DNA- og próteinbóluefni. Markmið verkefnisins er að hanna veirugenaferjur sem geta tjáð ofnæmisvakagen fyrir genabólusetningu eða afnæmingu í sumarexemi. Notast verður við tvær veirur við gerð veirufurjanna, equine gammaherpesvirus 2 (EHV-2) og baculoveiru. Hestar eru sýktir með EHV-2 frá unga aldri, en veiran veldur litlum sem engum sjúkdómi. Fólöld sýkjast í öndunarfæri og sýkingin þróast yfir í dulþýkingu sem endist ævilangt en endursýkingar með öðrum afbrigðum eru algengar. Baculoveiran er veira sem sýkir skordýr og er notuð til að framleiða próteinraðbrigði í skordýrafrumum.

Efniviður og aðferðir:

Við hönnun á EHV-2 veirufurjum er notuð eyðuhreinsuð íslensk veira, EHV2-Bj, sem einangruð var úr 8 vetra heilbrigðum hesti. Bac-to-Bac próteintjáningarkerfið (Invitrogen) verður notað við gerð á endurröðuðum baculoveirum. Fullgerðar veirufurjur verða innleiddar með lipofectamineTM2000 (Invitrogen) í EHV2-Bj sýktar hestafósturnýrnafrumur. Enhanced green fluorescent protein (EGFP) verður notað sem prófgen á innsetningu í EHV-2 ferjur. Skimað verður fyrir endurröðuðum veirum með PCR, ónæmisþrykki eða flúrsmásjá.

Niðurstöður:

Verið er að hanna fjórar mismunandi EHV ferjur og eru tvær (1 og 2) sem tjá flúrljómandi prótein (EGFP) tilbúnar. Í þessum ferjum er EGFP eða SE-ofnæmisvakagenum komið fyrir á ólíkum stöðum í erfðaefni EHV2-Bj:

- 1) EGFP komið fyrir aftan við glycoprotein B (gB) genið.
- 2) CMV-EGFP-SV40polyA tjáningarkasetta sett milli gB og DNA polymerasa genanna.
- 3) CMV-EGFP-SV40polyA tjáningarkasetta sett aftan við DNA polymerasa genið.
- 4) CMV-Antigen 5-SV40polyA sett inn í thymidine kinase genið.

Hönnun á baculoveirufurju er einng hafin. Vænlegustu veirugenaferjurnar verða svo notaðar í bólusetningartilraunir í hestum.

Ályktanir:

Notkun á veirugenaferjum til bólusetninga gegn ofnæmi er ný nálgun í ofnæmisrannsóknum og ofnæmismedhöndlun. Verði niðurstöður verkefnisins jákvæðar nýtast þær ekki eingöngu í meðhöndlun á sumarexemi í hrossum heldur einnig í öðrum ofnæmissjúkdómum í dýrum og jafnvel mönnum. Einnig myndu ferjurnar nýtast í DNA bóluefni gegn smitsjúkdómum. DNA bóluefni er góður valkostur þar sem þau eru frekar ódýr í framleiðslu og stöðug en prótein fyrir próteinbóluefni geta verið mjög erfið í framleiðslu og hreinsun. EHV-2 veirur með sýnigenum opna auk þess nýja möguleika til rannsókna á sýkingar- og sjúkdómsferli gammaherpesveira í hestum.

Einangrun og tjáning á hýalúronidasa, aðalofnæmisvaka í sumarexemi í hestum

Sigríður Jónsdóttir¹, Þórunn Sóley Björnsdóttir¹, Sigríður Kristín Rúnarsdóttir¹, Einar Mäntylä², Eliane Martí³, Vilhjálmur Svansson¹ og Sigurbjörg Þorsteinsdóttir¹

¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

²ORF Líftækni ehf

³Department of Clinical Research, Vetsuisse Faculty, University of Bern, Bern, Sviss

Inngangur:

Sumarexem (SE) er ofnæmi af gerð I í hrossum með framleiðslu á IgE. Sjúkdómurinn orsakast af próteinum (ofnæmisvökum) úr bitkirtlum smámýs (*Culicoides* spp.) en það lifir ekki á Íslandi. Hestum fæddum á Íslandi er mun hættara við að fá sumarexem en hestum fæddum erlendis. Helmingur allra útfluttra hesta sem eru á smámýssvæðum, fá sumarexem ef ekkert er gert til að sporna við því. Einn af aðalofnæmisvökunum er hýalúronidasi, ensím sem brýtur niður hýalúronsýru í bindivef og eykur með því aðgengi flugunnar að næringu. Hýalúronidasi (hýa) er þekktur í bitkirtlum moskítóflugna og er einn helsti ofnæmisvaki í stunguvökva býflugna og vespa. Markmiðið er að einangra og raðgreina hýa genið úr smámýi, tjá hýa próteinið í skordýrafrumum og hreinsa það. Einnig að tjá próteinið í byggi í samstarfi við ORF Líftækni. Framleiða einstofna og fjölstofna mótefni gegn próteininu til að auðvelda greiningu og hreinsun.

Efni og aðferðir:

Hýa genið var magnað upp úr λZapII cDNA safni úr bitkirtlum *Culicoides nubeculosus* (GATC Biotechnology), límt inn í FastBac ferju og raðgreint. Próteinið var tjáð í Sf-9 skordýrafrumum með Baculoveirukerfinu (Bac to Bac, Invitrogen) og var tjáningin skoðuð með ónæmisþrykki. Fjölstofna mótefni var framleitt í kviðarholsvökva músa gegn hreinsuðum *E. coli* tjáðum hluta hýa próteinsins (30 kDa) og einstofna mótefni gegn sama hluta með frumublendingsaðferð. Tjáning í byggi var gerð samkvæmt OrfeusTM-kerfinu.

Niðurstöður:

Tekist hefur að magna upp alla hýa röðina og raðgreina hana, hún var 1209 bp. Hýa próteinið var tjáð í Sf-9 skordýrafrumum og myndaðist það í innlyksum. Fjölstofna mótefnið var notað í ónæmisþrykki til að greina próteinið eftir tjáningu í skordýrafrumum. Ræktaðir voru upp 12 jákvæðir frumblendingar sem framleiddu einstofna mótefni gegn hýa. Hjá ORF Líftækni var hýaröðin táknabestuð fyrir tjáningu í byggi, 500 frækím hafa verið meðhöndluð og vefjaræktuð. Alls voru 121 hýa-bygg línur sendar í ræktun. T1 frá 34 línunum voru skimuð fyrir tjáningu á hýa og af þeim voru 8 línur sáð áfram fyrir T2 kynslóð plantna.

Umræður:

Verið er að hreinsa hýa próteinið úr skordýrafrumum, einnig er verið að prófa mótefnin á smámýsbitkirtlum og athuga hvort einstofna mótefnin virki í öðrum prófum en ónæmisþrykki. Hjá ORF Líftækni verða T2 (önnur kynslóð) frá skimuð í sumar og frægum jákvæðra plöntu einstaklinga sáð fyrir T3 kynslóð plantna.

Styrktaraðilar: RANNÍS, Framleiðnisjóður landbúnaðarins og Rannsóknasjóður HÍ

Inflúensa í svínum

Vilhjálmur Svansson

Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Svínainflúensu (SI) valda sýkingar með inflúensuveirum af stofni A í svínum. Nokkrar sermisgerðir af svínainflúensuveirum A (SIAV) er að finna í svínum. Algengustu gerðirnar nú um stundir eru H1N1, H1N2 og H3N2.

Inflúensuveirur af gerð A tilheyra *Orthomyxoviridae* veirufjölskyldunni og eru hjúþklæddar. Erfðaefnið eru 8 einstregja RNA bútar sem skrá fyrir 10-11 próteinum. Inflúensuveirum er skipt niður í undirgerðir eftir sermisgerð tveggja hjúþpróteina þ.e. hemagglutinin (HA) og neuraminidase (NA). Þessi tvö prótein sjá um bindingu og losun veirunnar frá frumunni og ónæmissvör gegn þeim eru mikilvæg fyrir feril sýkingarinnar í hýslinum. Andfuglar og mávar eru taldir höfuðhýslar inflúensuveira og fuglar taldir uppspretta inflúensúsýkinga í öðrum dýrum. Í fuglum hafa fundist allar þær 16 gerðir af hemagglutinin (HA1 - HA16) og 9 gerðir af neuraminidase (NA1 - NA9) sem nú eru þekktar.

Breytingar í erfðaefni inflúensuveira eiga sér stað með tvennum hætti þ.e. punktstökkbreytingar í kirniröðum RNA og með uppstokkun á RNA bútum milli tveggja eða fleiri inflúensugerða. Þegar inflúensuveirur skiptast á HA eða NA erfðaefnisbútum er talað um mótefnavakaskipti (*antigen shift*), slíkar breytingar í HA og NA tengjast oft alheimsfaröldrum í mönnum. Líkt og aðrar einstregja RNA veirur er stökkbreytitiðnin í RNA há og er talað um mótefnavakarek (*antigen drift*) þegar kirnibreytingar í RNA valda breytingum í HA og NA próteinum veirunnar.

Í svínum er inflúensa bráður öndunarfarerásjúkdómur. Sýkingatiðni (*morbidity*) í hjörðum er há eða allt að 100% en dauðatiðnin (*mortality*) yfirleitt lág eða 0-4% komi fylgisýkingar ekki til. Víðast hvar í heiminum er inflúensa landlæg í svínum. Ísland er eitt fárra landa þar sem svín hafa ekki verið smituð af inflúensuveirum.

Fyrir utan svín er SI smit þekkt í mönnum og kalkúnum. Sýkingar í mönnum með SI veirum eru fátíðar og dreifast vanalega ekki milli manna. Þó hafa komið upp tilvik þar sem svínainflúensuveirur hafa náð meiri dreifingu í mönnum. Nýjasta dæmi um slíkt smit er H1N1 afbrigðið af svínainflúensuveiru sem kom upp í Mexíkó í byrjun árs 2009 og varð að alheimsfaraldri í mönnum.

Nokkur tilfelli eru staðfest þar sem veiran hefur borist í svín úr mönnum en auk þess hefur afbrigðið verið staðfest í einangruðum tilfellum í hænum, kalkúnum og gæludýrum (hundum, köttum og frettu). Þar sem H1N1 afbrigðið hefur borist í svín eru einkennin væg og svipuð því sem sést í öðrum SI sýkingum í svínum. Inflúensu A/H1N1 veirur voru fyrst einangraðar úr svínum 1930 en líklegt er talið að H1N1 veiran hafi borist í svín 1918 á sama tíma og H1N1 veiran sem olli spænskuveikinni í mönnum. Rannsóknir á erfðaefnisbútum nýja afbrigðisins af H1N1 svínainflúensuveirunni benda til að hún sé blanda af norðuramerískum og evrópskum SI veirum. Allir erfðaefnisbútar veirunnar eru þekktir frá öðrum SI veirugerðum og hafa verið til staðar í svínum í minnst 10 ár. Nokkrir bútanna eru úr upprunalegu H1N1 veirunni frá 1918 en aðrir eru komnir seinna úr fugla- og mannaveirum.

Svínainflúensa kom upp á tveim svínabúum hérlendis í lok árs 2009 þegar faraldur af völdum veirunnar var hér í hámarki í mönnum. Rannsóknir sýndu að um nýja afbrigði H1N1 veirunnar var að ræða með >99% samsvörum í HA og NA genum við nýja H1N1 afbrigðið í mönnum. Fylgst var með ferli sýkingarinnar á svínabúunum og virðist smitið nú vera um garð gengið.

Rannsóknir á genatjáningu og meðhöndlun cystatin C í fíbróblöstum *CST3-L68Q* arfbera

*Birkir Þór Bragason*¹, *Gustav Östner*^{1,3}, *Björn Þór Aðalsteinsson*¹, *Ásbjörg Ósk Snorradóttir*¹,
*Eliás Ólafsson*² og *Ástríður Pálsdóttir*¹

¹*Tilraunastöð Háskóla Ísland í meinafræði að Keldum*

²*Taugalækningadeild B2, Landspítali Háskólasjúkrahús*

³*Dept of Clinical Chemistry and Pharmacology, Lund University Hospital, Svíþjóð*

Inngangur:

Arfgeng heilablæðing er séríslenskur mýlildissjúkdómur sem stafar af stökkbreytingu (L68Q) í cystatin C geninu, *CST3*. Stökkbreytt cystatin C prótín myndar mýlildi í ýmsum vefjum, en aðallega í slagæðaveggjum heilans þar sem uppsöfnunin veldur heilablæðingum í ungu fólki. Ekki er til neitt músalíkan af sjúkdóminum og því höfum við unnið að því að skilgreina “frumulíkan” til að leitast við að svara grundvallarspurningum um ferla sem gætu legið til grundvallar sjúkdómsmynd arfgengrar heilablæðingar. Sú frumugerð sem við höfum notað eru húðfíbróblastar. Við höfum notað slíkar frumur til að kanna: (a) far (processing) cystatin C í húðfíbróblöstum sem ræktaðir hafa verið úr L68Q arfberum, með áherslu á staðsetningu prótínsins innan fruma og hugsanlega myndun prótín-tvennda (eða hærri margfelda), og (b) mun í heildar-genatjáningu fruma úr arfberunum og fruma úr viðmiðum.

Efniviður og aðferðir:

Húðfíbróblastar voru ræktaðir úr húðsýnum 9 arfbera og 6 viðmiða. Staðsetning cystatin C prótíns, magn og eiginleikar (einliða, tvenndir o.s.frv.) var greint með ónæmislitunum, prótínþrykki og ELISA. Tjáning gena í fíbróblöstum var greind með þörun cDNA við cDNA-örflögur (microarray (NimbleGen)) og með rauntíma PCRi á cDNAi.

Niðurstöður og ályktanir:

Ekki var marktækur munur í heildar mRNA magni cystatin C gensins, *CST3*, milli arfbera og viðmiða, sem bendir til þess að tjáning stökkbreytts og óstökkbreytts allels sé svipað. Munur var á áhrifum próteasóm-hindrunar á frumur arfbera og viðmiða þannig að slík hindrun olli uppsöfnun cystatin C í frumum arfbera ekki viðmiða. Fíbróblastar arfbera og viðmiða voru flúrlitaðir fyrir Golgi kerfinu og cystatin C. Með fylgniprófi var unnt að sjá að samlitun cystatin C og Golgi kerfisins var lægri í frumum arfbera en viðmiða. ELISA greining á magni cystatin C í seyti arfberafruma sýndi síðan að marktækt minna magn af cystatin C var í seyti þeirra en í seyti viðmiða. Samanlagt benda þessar niðurstöður til þess að gæðaeftirlitskerfi fruma sendi L68Q cystatin C að einhverju leyti til niðurbrots í ubiquitin-próteasóm kerfinu og þetta leiði til þess að heildar cystatin C magn sem er seytt frá arfberafrumum sé lægra en í viðmiðum. Samanburður á heildar-genatjáningu fruma úr arfberum og viðmiðum leiddi í ljós umtalsverðan mun, þ.e. 257 genanna voru með marktækt frábrugðna tjáningu í arfberunum ($p < 0,001$; 128 upptjád, 129 niðurtjád). Unnið hefur verið að staðfestingu þessara niðurstaðna með rauntíma PCRi.

Eru utangenaerfðir að verki í arfgengri heilablæðingu?

Ástríður Pálsdóttir¹, Birkir Þór Bragason¹, Gustav Östner^{1,3}, Björn Þór Aðalsteinsson¹, Ásbjörg Ósk Snorradóttir¹ og Elías Ólafsson²

¹Tilraunastöð Háskóla Ísland í meinafræði að Keldum

²Taugalækningadeild B2, Landspítali Háskólasjúkrahús

³Dept of Clinical Chemistry and Pharmacology, Lund University Hospital, Sviþjóð

Arfgeng heilablæðing (Hereditary cystatin C amyloid angiopathy) er séríslenskur erfðasjúkdómur sem erfist ríkjandi á ókynbundin hátt. Hann stafar af stökkbreytingu í cystatin C geninu (L68Q). Stökkbreytta próteinið hleðst upp sem mýlildi (amyloid) í heilaslagaðum arfbera, sem leiðir til rofnunar á æðum og heilablæðingar. Nú á dögum lifa arfberar að meðaltali rúmlega 30 ár.

Nýlegar niðurstöður okkar benda til þess að mikil bandvefsuppsöfnun eigi sér stað í heilaslagaðum sjúklinga. Þetta sést með Masson-Trichrome vefjalitunum og ónæmislitunum gegn kollagenum. Fyrri rannsókn okkar, sem fólst í ættrakningu á heilblæðarafjölskyldum, sýndi að fyrir 200 árum lifðu arfberar eðlilega ævilengd, sem bendir til þess að sýnd stökkbreytingarinnar hafi verið lág eða engin. Á 19. öldinni (uppúr 1820) fór ævilengd arfbera (miðað við viðmið) hratt lækkandi uns nútímagildum var náð í kringum aldamótin 1900. Á sama tíma komu fram mæðraáhrif sem lýstu sér í því að þeir sem erfðu genið frá mæðrum sínum lifðu 9,4 árum skemur en hinir sem fengu það frá feðrum sínum.

Örflögugreining (expression microarray (NimbleGen)) var notuð til að bera saman heildargenatjáningu í ræktuðum húðbandvefsfrumum arfbera miðað við viðmiðunarfrumur. Við fundum mun á genavirkni þegar frumur arfbera voru bornar saman við frumur viðmiða. Niðurstöðurnar hafa voru sannreynðar með rauntíma PCR.

Í heild benda niðurstöðurnar til þess að húðbandvefsfrumur arfberanna hafi eiginleika mýofibróblasta, en það eru viðgerðarfrumur sem geta verið af ýmsum uppruna. Það er merkilegt að þær skuli koma úr húð arfbera en reyndar hefur mýlildi fundist í húð þeirra svo þær eru e.t.v espaðar fyrir.

Óvænt sáum við mun á tjáningu gena sem eru undir stjórn utangenaerfða (epigenetics). Einnig var munur á tjáningu gena sem stýra utangenaerfðum. Utangenaerfðir eru skilgreindar sem breytingar í genastjórn sem ekki eru breytingar í sjálfu erfðaefninu, eins konar yfirstjórn. Til dæmis má nefna histón deasetýlasa ensím sem fjarlægja acetylhópa af histónum sem venjulega leiðir til þöggunar þeirra gena sem histónar tengjast á.

Histón deasetýlasa latar geta komið í veg fyrir sérhæfingu fruma yfir í mýofibróblasta og lækkað bandvefsmyndun. Einn þessara lata er smjörσύra sem er ósérhæfður lati. Í upphafi 19. aldar tíðkaðist að búa til súrt smjör sem geymdist lengi. Mögulega hefur smjörσύra í gamla smjörinu verið nægjanleg til þess að letja deasetýlasa sem annars hefðu myndað mýofibróblasta og offramleitt bandvef og þannig stuðlað að sjúkdómsmyndinni. Rannsóknir okkar beinast að samspili á myndum mýofibróblasta og utangenaerfða.

Taugasækni mæði-visnuveirunnar

*Eydís Þórunn Guðmundsdóttir og Valgerður Andrésdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Mæði-visnuveiran (MVV) er lentiveira, sem sýkir sauðfé og veldur lungnabólgu og heilabólgu. Aðal markfrumur veirunnar *in vivo* eru átfrumur, en sumir stofnar MVV geta einnig vaxið í öðrum frumugerðum bæði *in vitro* og *in vivo*. Áður hefur verið sýnt fram á að endurtekning á basaröð í LTR (long terminal repeat) MVV veldur því að veiran getur vaxið í æðaflækjufrumum, liðþelsfrumum og fibróblöstum auk átfrumna. Við höfum einnig sýnt fram á að heilasækni MVV tengist þeim stofnum sem eru með tvöfalda röð í LTR. LTR er stýrisvæði veirunnar, og þar eru efliraðir sem umritunarþættir úr frumunni þekkja. Það er því líklegt að um sé að ræða stjórn á umritun. Þennan mun sem við fundum á vexti veiranna eftir því hvort þær höfðu einfalda eða tvöfalda röð í LTR var þó ekki hægt að nema í tjáningarvektorum þar sem LTR með einfalda eða tvöfalda röð var skeytt fyrir framan merkigen. Markmið þessarar rannsóknar var að komast að því hvar í fjölgunarferli MVV veira, sem ekki hafa tvöföldun í LTR, hindrun er í æðaflækjufrumum. Í því skyni var víxlritun, innlimun og mRNA myndun strax eftir sýkingu borin saman milli stofna með einfalda eða tvöfalda röð í LTR.

LTR með einfalda eða tvöfalda röð var klónað í sýkingarhæfa MVV klóninn KV1772. Æðaflækjufrumur voru sýktar með þessum veirum og sýni tekin á nokkrum tímupunktum fyrstu klukkustundirnar eftir sýkingu. Rauntíma PCR var svo notað til að fylgjast með víxlritun og mRNA myndun í sýktu frumunum. Innlimun var athuguð með því að nota fluorescent in situ hybridization (FISH).

Enginn munur fannst á víxlritun á milli stofnanna, þar sem DNA myndun beggja stofna jókst jafn hratt á fyrstu 12 tímum eftir sýkingu. Þegar athugað var hvort munur væri á innlimun VA4 og VA3 kom í ljós að báðar veirugerðir ná að innlima genamengi sitt inn í litninga hýsilfrumunnar. Munur fannst á mRNA myndun, þar sem mRNA myndun var meiri í VA4, sem hefur tvöföldun í LTR, en VA3, sem ekki hefur tvöföldun í LTR, eftir 24 og 30 tíma sýkingu.

Þessar niðurstöður benda til þess að frumusækni mæði-visnuveiru sé stjórnað á umritunarstigi. Líklega er hér um að ræða stjórn á litni, sem ekki finnst með tjáningarvektorum.

Lentiveiruhindrar

*Harpa Lind Björnsdóttir og Valgerður Andrésdóttir
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Mæði-visnuveira er lentiveira sem sýkir kindur og hefur aðallega áhrif á lungu og taugakerfið. MVV þarfnast Vif til að geta vaxið almennilega í átfrumum og *in vivo*, líkt og flestar aðrar lentiveirur. Sé Vif ekki til staðar safnast upp G-A stökkbreytingar í proviral DNA veirunnar og veiran vex illa í kindaðaflækjufrumum (plexus) og átfrumum en getur þó vaxið í fósturliðþelsfrumum (FOS). Þessum G-A stökkbreytingum veldur prótein sem nefnist APOBEC3 (A3), og virðist eina hlutverk þess í frumum vera að verja frumurnar gegn retroveirum. Mótleikur veiranna gegn A3 próteinum er Vif, sem binst við A3 prótein og sendir þau til niðurbrots í 26S próteasómi.

W98R stökkbreyting í vif veldur sömu svipgerð og vif-mínus stökkbreyting. Önnur stökkbreyting í vif (P205S) hefur hinsvegar ekki áhrif á vöxt veira ein og sér, en sé stökkbreyting í hylkispróteini (CA) til staðar vex veiran illa í FOS og átfrumum en betur í plexusfrumum. Aukin tíðni G-A stökkbreytinga finnst ekki í veirum með báðum stökkbreytingunum sem vaxa í FOS.

Þetta bendir til tengsla á milli CA og Vif í vexti veirunnar sem eru trufluð með stökkbreytingunum. Þetta gæti einnig bent til að í FOS og átfrumum sé virkur hindri sem hefur áhrif þegar þessa tengingu vantar, eða að í plexusfrumum en ekki FOS eða átfrumum sé að finna frumuþátt sem veiran þarfnist ef tenging milli hylkis og vif er rofin.

Markmið rannsóknarinnar er að finna út á hvaða stigi veiruhingsins hömlun á vexti veira sé að finna, sem getur veitt upplýsingar um hlutverk og virkni hindrans eða frumuþáttarins.

Virgni og þróun APOBEC3 próteina

Stefán Ragnar Jónsson^{1,2}, *Rebecca S. LaRue*², *Valgerður Andrésdóttir*¹ og *Reuben S. Harris*²
¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

²Department for Biochemistry, Molecular Biology and Biophysics og Institute for Molecular Virology, University of Minnesota, Minneapolis, Minnesota, USA

Inngangur:

Lífverur hafa frá örófi alda þróað með sér varnir gegn retróveirusýkingum. Dæmi um slíkt eru APOBEC3 próteinin en þau eru fjölskylda cytósín deaminasa sem geta hindrað retróveirur og retróstökkla með því að afaminera cytósín í úrasil í einþátta DNA á meðan á víxlritun stendur. Lentiveirur hafa þó mótaleik við þessu, veirupróteinið Vif sem stuðlar að niðurbroti APOBEC3 próteina. APOBEC3 prótein er eingungis að finna í spendýrum. Hvert *APOBEC3* gen skráir fyrir próteini með eitt eða tvö varðveitt virkniset. Mýs hafa eitt *APOBEC3* gen en menn hafa hins vegar 7, sem bendir til mikils þróunarfræðilegs sveigjanleika. Í þessu verkefni hafa APOBEC3 prótein klaufdýra verið skoðuð með það fyrir augum að ákvarða fjölda þeirra og kanna virkni þeirra gegn retróveirum. Einnig var athugað hversu næm APOBEC3 prótein eru fyrir áhrifum Vif próteina mismunandi lentiveira.

Efniviður og aðferðir:

Leitað var í cDNA söfnum af APOBEC3 próteinum kúa og svína og upplýsingar um varðveitt hneppi notuð til að klóna kinda APOBEC3 prótein. Athugað var hvort próteinin gætu hindrað retróveirusýkingu með HIV-GFP sýkingu í frumurækt. Kannað var hvort hindrunin ætti sér stað með cDNA afamineringu með því að klóna og raðgreina innlimað veiru DNA. Einnig var athugað hvort þau væru ónæm fyrir hindrum með Vif próteinum nokkura lentiveira. Innanfrumu staðsetning APOBEC3 próteinanna var athuguð með tjáningu GFP-tengdra APOBEC3 próteina.

Niðurstöður og ályktanir:

Kindur og nautgripir hafa 3 *APOBEC3* gen sem tjá 4 prótein en svín 2 *APOBEC3* gen sem tjá 3 prótein. Samanburður á villtum og tömdum svínum bendir til þess að þriðja genið hafi tapast snemma í þróun *suidae* ættkvíslarinnar. APOBEC3 prótein klaufdýra eru að mestu tjáð í umfrymi. Þau geta hindrað retróveirusýkingu með cytósín afamineringu og eru ónæm fyrir hindrun með Vif próteini HIV-1. Flest APOBEC3 protein hafa tvö afamineringarhneppi, og er C-enda hneppið virkt í þeim mannpróteinum sem skoðuð hafa verið. Klaufdýra APOBEC3 próteinin hafa hins vegar virkt N-enda afamineringarhneppi. Þetta bendir til þess að staðsetning innan frumu og virkni gegn retróverum sé varðveitt milli spendýra, en að staðsetning virka afamineringarhneppisins og næmni gegn Vif sé ólík. Saman benda þessar niðurstöður því til aðlögunar og virkrar baráttu milli APOBEC3 próteina og retróveira. Vif prótein lentiveira eru almennt hýsilsérhæfð, þ.e. þau virka best gegn APOBEC3 próteinum sinna hýsla, en nokkrar undantekningar eru á því og virðist Vif prótein MVV vera virkt gegn APOBEC3 próteinum margra spendýra tegunda.

Tjáning miRNA á mismunandi þroskastigum lifrar

Dong Liu¹, Jing Fan¹, Wanjiang Zeng², Yiwu Zhou³, Sigurður Ingvarsson⁴ og Huiping Chen¹
¹ *Department of Medical Genetics, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China*

² *Department of Obstetrics and Gynecology, Tongji Hospital, Wuhan, Hubei, China*

³ *Department of Forensic Science, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, China*

⁴ *Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

Litlar RNA-sameindir, svokallað miRNA, eru að lengdinni 17-25 kirni og taka þátt í að stjórna genatjáningu. Þannig gegna þær mikilvægu hlutverki í ýmsum líffræðilegum ferlum og hafa m.a. áhrif á þroska og sérhæfingu fruma. Tjáning á þessum miRNA sameindum er bæði vefjasértæk og þroskasértæk. Breytilegir hópar af miRNA taka þátt í að stjórna þroska vefjagerða. Ákveðnar gerðir miRNA sjá um að stjórna genatjáningu í lifrarfrumum. Í rannsókninni voru miRNA-sameindir greindar og einangraðar úr tveimur cDNA genasöfnum sem innihalda erfðamengi frá mannalífur á mismunandi fósturskeiðum. Gen fjörutíu og tveggja mismunandi miRNA voru einangruð, raðgreind og borin saman við gagnagrunna. Þar af voru 36 miRNA sem greinst höfðu áður í lifur á fósturskeiði og eitt nýtt. Mismunandi afbrigði í kirniröð greindust í mörgum þessara miRNA, þ.e. afbrigði sem ekki hafa greinst áður. Tjáning á þessum miRNA sameindum var greind með rauntíma PCR í fimm vefjasýnum úr mönnum, þ.e. í æðabelgskögr, í lifur á degi 18, 27 og 35 í fósturþroska og í lifur úr fullorðnum. Magngreiningar sýndu hærri tjáningu allmargra miRNA í lifur á fósturskeiði í samanburði við lifur á fullorðinsstigi. Sérstaka athygli vakti há tjáning á nokkrum miRNA í æðabelgskögr í samanburði við önnur sýni. Þetta bendir til að bæling fari fram á markgenum viðkomandi miRNA á þessu þroskastigi. Einnig kom fram breytileg tjáning miRNA-sameinda á mismunandi þroskastigum lifrar á fósturskeiði. Magngreiningar á þessum miRNA í lifur á fósturskeiði sýndu að miR-122 er með mestu tjáninguna. Einnig benda magngreiningar á sjö öðrum miRNA-sameindum, þ.e. miR-21, miR-148a, miR-192, miR-194, miR-451, Let7a og Let7b, til að þær séu einkennandi fyrir lifur. Sum þessara miRNA hafa sama markgen, s.s. miR-122 og miR-148a og einnig Let7a og Let7b. Álykta má að ákveðinn hópur miRNA-sameinda gegni mikilvægu hlutverki í þroska lifrar á fósturskeiði og að sami hópur gegni takmarkaðra hlutverki í lifur fullorðins einstaklings. Sennilega er um að ræða ferli sem felur í sér samþættingu miRNA-sameinda.

Vessabundin viðbrögð við fyrstu stigum bakteríusýkingar í þorski

*Bergljót Magnadóttir¹, Sigríður Steinunn Auðunsdóttir¹, Berglind Gísladóttir²,
Birkir Þór Bragason¹ og Sigríður Guðmundsdóttir¹*
¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum
²Blóðbankinn, Landspítali Háskólasjúkrahús

Á undanförunum árum hafa umfangsmiklar rannsóknir á ónæmiskerfi þorsks (*Gadus morhua* L.) farið fram að Keldum. Einn liður í þessum rannsóknum hafa verið kannanir á fyrstu viðbrögðum þorsks við bráðaáreiti og sýkingu.

Í þessu verkefni voru breytingar á vessabundnum ónæmisþáttum rannsakaðar á fyrstu dögum eftir sýkingu af völdum bakteríunnar *Aeromonas salmonicida* undirteg. *achromogenes* (Asa) sem veldur sjúkdómnum kylaveikibróður í þorski og fleiri fisktegundum.

Um 90 g þorskur var fenginn frá Tilraunaeldisstöð Hafrannsóknastofnunar á Stað við Grindavík og hafður í 170 l kerum á Keldum. Þrjú hópar voru notaðir, hópur 1 var ósýktur, hópur 2 var sýktur með 3×10^5 einingum af Asa og hópur 3 með 3×10^6 einingum af Asa. Bakteríunni var sprautað í vöðva. Blóðsýni voru tekin fyrir sýkingu og eftir 1 og 6 daga. Eftirfarandi greiningar voru gerðar á sermi: Heildarmagn prótína, streitu hormónsins cortisol, mótefnis IgM og pentraxína, CRP PI og CRP PII, sem eru dæmigerð bráðaprótín í spendýrum og ýmsum fisktegundum. Einnig var virkni náttúrulegra og sérvirkra mótefna og ensímtálma mæld.

Niðurstöður sýndu að lítill sem enginn munur var á sýkingarhópunum hvað varðar einangrun á bakteríunni úr nýra. Báðir hópar sýndu um 80% sýkingu eftir 6 daga. Umtalsverð hækkun varð á streituhormóninu í kjölfar sýkingar en aðrir þættir sýndu litla breytingu og yfirleitt til lækkunar miðað við ósýkta fiskinn. Engin sérvirk mótefni gegn Asa greindust á tímabilinu.

Stuttur sýkingartími, 6 dagar, er sennilega skýringin á þeim takmörkuðu viðbrögðum ónæmiskerfisins sem greindust en niðurstöðurnar sýna jafnframt að ónæmissvar þorsks er tiltölulega seinvirkt í kjölfar sýkingar og/eða hindrað af aukningu cortisol í sermi.

Icelandic Agricultural Sciences

Bjarni E. Guðleifsson¹, Bjarni Diðrik Sigurðsson² og Sigurður Ingvarsson³

¹Landbúnaðarháskóli Íslands, Möðruvellir, 601 Akureyri

²Landbúnaðarháskóli Íslands, Hvanneyri, 311 Borgarnes

³Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Icelandic Agricultural Sciences er ritrýnt tímarit sem nú er komið á ISI-gagnagrunninn (Institute for Scientific Information) og birtist á Web-of-science. Ritið er þar með viðurkennt sem fyrsta flokks alþjóðlegt vísindarit.

Icelandic Agricultural Sciences er sent á margar fræðastofnanir víða um heiminn og hafa greinar þess verið skráðar í CAB Abstracts, BIOSIS gagnagrunninn og Google-Schoolar leitarvélina. Þannig hafa greinar ritsins náð til erlendra fræðimanna.

Ritið gekk áður undir nafninu **Búvísindi** en frá árinu 2004 hefur það borið núverandi heiti og einungis tekið greinar á ensku sem allar eru ritrýndar af íslenskum og erlendum vísindamönnum. Á síðasta ári kom út 22. hefti ritsins og er hér sýnt efnisinnihald þess heftis:

Sigurður Ingvarsson - Preface to articles about diseases in fish

Árni Kristmundsson and **Sigurður H Richter** - Parasites of resident arctic charr, *Salvelinus alpinus*, and brown trout, *Salmo trutta*, in two lakes in Iceland

Tarangani Herath, Janina Costa, Kim Thompson Alexandra Adams and Randolph Richards - Alternative cell lines for isolation of salmonoid alphavirus

Razul A Khan - Parasites causing disease in wild and cultured fish in Newfoundland

Zoheir Y Ashrafi, Sedigheh Sadeghi and Hamid R Mashhadi - Inhibitive effects of barley (*Hordeum vulgare*) on germination and growth of seedling quack grass (*Agropyrum repens*)

Maney Sveinsdóttir, Steinar Rafn Beck Baldursson and Johan Orygsson - Ethanol production from monosugars and lignocellulosic biomass by thermophilic bacteria isolated from Icelandic hot springs

Hreinn Óskarsson and Sigríður Júlía Brynleifsdóttir - The interaction of fertilization in nursery and field on survival, growth and the frost heaving of birch and spruce

Útgefendur ritsins eru eftirtaldar stofnanir:

Landbúnaðarháskóli Íslands

Háskólinn á Hólum

Rannsóknastöð skógræktar, Mógilsá

Veiðimálastofnun

Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Matís

Landgræðsla ríkisins

Bændasamtök Íslands

Heimasíða ritsins er www.ias.is

MvP1 peptíðasi fisksýkilsins *Moritella viscosa* er vibriolysin og sýkipáttur

*Bryndís Björnsdóttir*¹, *Ólafur H. Friðjónsson*² og *Bjarnheiður K. Guðmundsdóttir*¹
¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum
²Matís-Prokaria

Inngangur:

Moritella viscosa veldur vetrarsárum í laxfiskum í eldi í N-Atlantshafi. Djúp sár myndast á sýktum fiskum og hefur sjúkdómurinn umtalsverð efnahagsleg áhrif í fiskeldi. Markmið rannsóknarinnar var að einangra og skilgreina virkni utanfrumu peptíðasa *M. viscosa* og rannskaka þátt hans í sýkingarmætti bakteríunnar.

Efni og aðferðir:

Peptíðasinn var einangraður frá seyti með FPLC súluskiljun. Hreinleiki og stærð peptíðasans voru ákvörðuð með SDS-PAGE rafdrætti og ónæmisþrykki. Azocasein próf og caseinvirknigel voru notuð til að ákvarða virkni peptíðasans og peptíðasahindrar notaðir til að greina virknigerð hans. Eiturvirkni peptíðasans og seytis bakteríunnar voru ákvörðuð *in vivo* og *in vitro*. Niðurbrot IgM og rof rauðra blóðkorna var einnig kannað. N-enda amínósýruröð peptíðasans var greind og gen hans raðgreint.

Niðurstöður:

Peptíðasinn, sem nefndur var MvP1, var málmpeptíðasi með kjörhitastig um 40 °C. MvP1 var ekki banvænn laxi í styrkleika upp að 0.22 µg/g fisk, en olli útbreiddum blæðingum og vefjaskemmdum í laxi. MvP1 olli ekki frumudrápi á fiskafrumuræktum en hafði áhrif á frumutengingar, þannig að rof myndaðist í frumuþekju. MvP1 braut niður fiska IgM en rauf ekki laxablóðkorn. Gen peptíðasans, *mvp1*, kóðaði fyrir fjölpeptíði með seytiröð, N- og C-enda forpeptíðum og vibriolysin hneppi. Vibriolysin hneppi *genus* sýndi hæsta samsvörun við vibriolysin ýmissa *Pseudoalteromonas* tegunda.

Ályktanir:

Niðurstöður rannsóknarinnar benda til að MvP1 sé áður óþekkt vibriolysin sem hugsanlega hefur áhrif á sýkingarmátt *M. viscosa* með því að stuðla að innrás og útbreiðslu bakteríunnar í hýsli, með því að valda vefjaskemmdum.

Drug Library Screening - Targeting Cystatin C dimerization, amyloid formation and cerebral hemorrhage

Gustav Ostner¹, Veronica Lindstrom¹, Ossur I Emilsson¹, Anders Grubb¹
¹Dept of Clinical Chemistry and Pharmacology, Lund University Hospital, Sweden

No cure exists for the disease known as Hereditary Cystatin C Amyloid Angiopathy (HCCAA), where L68Q variant cystatin C deposits as amyloid within cerebral vessels, causing dementia and death from cerebral hemorrhage, in early adult life¹. Cystatin C has been shown to dimerize via three-dimensional domain swapping, and the same mechanism is implicated in the formation of oligomers and amyloid fibrils^{2,3}. One strategy to identify novel treatments for cystatin C amyloidosis, is to find substances which stabilize the monomeric protein, preventing domain swapping and subsequent amyloid deposition⁴. This work describes screening of a compound library, consisting of 1040 already approved drugs, aiming to identify inhibitors of cystatin C dimer formation.

Recombinant human wild-type and L68Q cystatin C was purified after expression in *E coli*. Dimerization of the pure monomeric protein was induced at 10 μ L in microtiter plates, with 80 compounds tested over 24 hours. The monomer/dimer ratio was determined by native agarose gel electrophoresis, with 40 samples *per* gel. At a total protein expense of 3 mg, 1040 drugs were tested at high concentration, 120 were retested at lower concentration and 30 were analyzed individually by size-exclusion chromatography (SEC).

Primary and secondary screening, together with SEC-validation, revealed a number of drugs affecting dimer formation of wt cystatin C. In addition, these compounds showed similar activity, when tested against the disease-associated L68Q variant cystatin C. One compound formed a complex with cystatin C, and completely prevented dimer formation. A number of potential therapeutic agents are currently validated in a cellular assay.

1. Olafsson, I.; Grubb, A. Hereditary cystatin C amyloid angiopathy. *Amyloid* 2000, 7, 70-9.
2. Janowski, R.; Kozak, M.; Jankowska, E.; Grzonka, Z.; Grubb, A.; Abrahamson, M.; Jaskolski, M. Human cystatin C, an amyloidogenic protein, dimerizes through three-dimensional domain swapping. *Nat Struct Biol* 2001, 8, 316-20.
3. Wahlbom, M.; Wang, X.; Lindstrom, V.; Carlemalm, E.; Jaskolski, M.; Grubb, A. Fibrillogenic oligomers of human cystatin C are formed by propagated domain swapping. *J Biol Chem* 2007, 282, 18318-26.
4. Nilsson, M.; Wang, X.; Rodziewicz-Motowidlo, S.; Janowski, R.; Lindstrom, V.; Onnerfjord, P.; Westermark, G.; Grzonka, Z.; Jaskolski, M.; Grubb, A. Prevention of domain swapping inhibits dimerization and amyloid fibril formation of cystatin C: use of engineered disulfide bridges, antibodies, and carboxymethylpapain to stabilize the monomeric form of cystatin C. *J Biol Chem* 2004, 279, 24236-45.

Breytingar á hjúppróteini mæði-visnuveiru við náttúrulegar sýkingar

Hallgrímur Arnarson¹, Margrét Guðnadóttir² og Valgerður Andrésdóttir¹

¹*Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum*

²*Rannsóknastofa í veirufræði, Landspítali Háskólasjúkrahús*

Inngangur:

Mæði-visnuveira er lentiveira sem smitast um öndunarveg og frá móður til afkvæmis með mjólk. Veiran á það sameiginlegt með öðrum lentiveirum (þ.á.m. HIV) að hún helst í líkamanum þrátt fyrir öflugt ónæmissvar. Mikill breytileiki, sérstaklega í yfirborðspróteinum, er meðal þátta sem auðvelda veirunni að komast fram hjá ónæmissvarinu. Yfirborðsprótein lentiveira eru á meðal sykruduðu próteina sem þekkjast, og hafa komið fram kenningar um að sykurljúpurinn sé síbreytilegur og verji veirurnar fyrir mótefnasvari. Í bólusetningartilraun með mæði-visnuveiru, þar sem reynt var á bólusetningu í gegnum náttúrulegar smitleiðir, fékkst nokkur vörn, en þó smitaðist u.þ.b. helmingur þeirra kinda sem voru bólusettar.

Markmið þessarar rannsóknar var að athuga hvort þær veirur sem ræktuðust úr bólusettum kindum hefðu stökkbreytt væki í yfirborðspróteini og kæmust þannig fram hjá ónæmissvarinu.

Efniviður og aðferðir:

Í bóluefni voru notaðar fíxeraðar veiruagnir af stofni K796 ásamt ónæmisglæði. Bólusettar kindur og óbólusettar voru hafðar með kindum sem voru sýktar með bóluefnisstofni. Veirur voru einangraðar bæði úr bólusettum og óbólusettum kindum og klónaður u.þ.b. 450 bp bútur úr vækisstöð yfirborðspróteins. Einnig voru gerð hlutleysandi mótefnapróf með sértæku sermi gegn bóluefnisstofni og með breiðvirkara sermi.

Niðurstöður og ályktanir:

Allir veirustofnar, hvort sem var úr bólusettum eða óbólusettum kindum höfðu stökkbreytingar í vækisstöð sem leiddu til þess að þeir komust undan sértæku ónæmissvari. Flestar þessar stökkbreytingar voru í sykrunarseti, sem styður þá tilgátu að sykrunin gegni sérstöku hlutverki hjá þessum veirum við að komast undan ónæmissvarinu. Einnig benda þessar niðurstöður til þess að það séu aðallega veirur sem komast undan ónæmissvarinu sem berast á milli í náttúrulegri sýkingu.

Breytileiki stofna gammaherpesveira í hestum á Íslandi

Lilja Þorsteinsdóttir¹, Einar G. Torfason², Sigurbjörg Þorsteinsdóttir¹ og Vilhjálmur Svansson¹
¹Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum
²Rannsóknastofa í veirufræði, Landspítali Háskólasjúkrahús

Inngangur:

Tvær gammaherpesveirur eru þekktar í hestum, equine herpesvirus (EHV) 2 og 5 og valda þær báðar einkennalitlum sýkingum. EHV-2 er meðal algengari veirusýkinga í hestum og hefur hún greinst um allan heim. Folöld sýkjast 1-6 mánaða og veldur frumsýking stundum vægri öndunarfærasýkingu. EHV-2 hefur einnig verið tengd við hornhimnubólgu, lungnabólgu, kokbólgu, hita, eitlastækkanir og lysterleysi. EHV-5 er ekki eins algeng og EHV-2. Hestar sýkjast seinna með EHV-5 en veiran var nýlega tengd við equine multinodular pulmonary fibrosis (EMPF). EHV-2 og EHV-5 ræktuðust í fyrsta skipti á Íslandi í tengslum við rannsóknir á orsökum smitandi hitasóttar sem gekk í hestum '98-'99. Veirurnar voru greindar sem gammaherpesveirur út frá hegðun í frumurækt og ónæmislitun. Út frá því var hannað og sett upp PCR próf sem greinir á milli EHV-2 og EHV-5 gerðanna og höfum við sýnt fram á að hestar á Íslandi eru sýktir af báðum veirum. Erfitt er að segja til um hvenær þessar veirur bárust til landsins, en miðað við eðli herpesýkinga, einangrun og höftum á hrossa innflutningi er líklegt að hestarnir sem fluttir voru til landsins við upphaf byggðar hafi verið sýktir af herpesveirum. Þetta er því einstakt tækifæri til að kanna hvernig herpesveirur þróast með einangruðum stofni í gegnum aldir án innkomu nýrra veirustofna.

Efniviður og aðferðir:

Íslenskar veirur voru ræktaðar frá heilbrigðum og veikum hestum í hestafósturnýrnafrumum og eyðuhreinsaðar. Erlendar veirur komu frá Zurich og voru ræktaðar upp hér í hestafósturnýrnafrumum og kanínunýrnafrumulínu. DNA var einangrað (Purgene®Gentra systems) og PCR framkvæmt. PCR afurðir voru ýmist raðgreindar beint (BigDye®Terminator v1.3cycle, Applied Biosystems) eða klónaðar fyrst inn í pBAD TOPO ferju (Invitrogen).

Niðurstöður:

Raðgreind voru 4 gen úr innlendum og erlendum veirustofnum, þ.e. glycoprotein B (gB), glycoprotein H (gH), DNA háða DNA fjölliðunarensímið og DNA terminasa genið. Genin voru fullraðgreind fyrir 3 íslenskar veirur. Út frá þeim breytileika sem sást eftir raðgreiningar voru ákveðin svæði valin og þau raðgreind fyrir 9 íslenskar veirur til viðbótar. Genin voru fullraðgreind fyrir 7 erlendar veirur. Mikill breytileiki var milli veirustofna þegar glycoproteinin voru skoðuð, en hins vegar lítil hjá hinum genunum. Ekki reyndist vera munur á íslensku og erlendu veirustofnunum.

Ályktanir:

Þegar þróunartré fyrir íslensku og erlendu veirustofnana voru skoðuð sást að stofnarnir hópuðust saman fyrir öll fjögur genin sem raðgreind voru. Því má segja að þúsund ára einangrun sé ekki nægur tími til að hafa merkjanleg áhrif á genamengi þeirra.

Lýs og mítlar á íslenskum nautgripum

Matthías Eydal og Sigurður H. Richter
Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum

Sjúkdómsbreytingar á húð nautgripa sjást stundum hér á landi en ekki er alltaf vitað af hvaða völdum þær eru. Naglúsin *Bovicola bovis* hefur lengi verið þekkt hérlendis og soglúsin *Solenopotes capillatus* hefur stöku sinnum fundist hér á síðari árum en engir mítlar höfðu fundist til þessa. Ein naglúsategund (Mallophaga), fimm soglúsategundir (Anoplura) og 8-9 tegundir áttfætulumítla (Acari) hafa fundist á nautgripum á heimsvísu.

Markmið rannsóknarinnar var að athuga nánar hvaða ytri snikjudýr finnast á íslenskum nautgripum, kanna tíðni þeirra á búum, sýkingartíðni og staðsetningu á gripunum og tengsl við sjúkdómseinkenni. Rannsóknin skiptist í kembirannsókn og húðsýnarannsókn. Bú voru valin af handahófi.

Kembirannsókn (lúsa- og mítlaleit) náði til 50 kálfa og 50 mjólkurkúa frá alls 10 búum á SV-landi, fimm kálfar og fimm kýr frá hverju búi. Ákveðin svæði á hverjum grip voru kembd; á haus, hálsi, framlöpp, baki/lend og hala (200-600 cm² fletir).

Naglúsin *B. bovis* og soglúsin *S. capillatus* fundust. Lýs fundust á 7 (70%) búanna. Á 50% búa fundust naglús og á 40% búanna soglús. Á 20% búanna fundust báðar tegundir. Lýs fundust á 40% kálfanna og á 4% mjólkurkúnna. Naglúsin fannst á 28% kálfanna og 2% kúnna. Soglúsin fannst á 16% kálfa og á 2% kúa. Á tveimur kálfum fundust báðar tegundir.

Á þeim gripum sem höfðu lýs var hlutfall gripa með naglús/soglús á einstökum svæðum eftirfarandi: Haus 15%/33%, háls 23%/67%, framfótur 0/33%, bak og lend 85%/17%, hali 23%/17%. Fjöldi naglúsa samanlagt á kembdum svæðum á einstökum gripum var 1-18, 69% allra naglúsa voru á baki og lend, 16% á haus, 8% á hálsi og 6% á hala. Fjöldi soglúsa á einstökum gripum var 1-11, 45% allra soglúsa voru á hálsi, 42% á haus, 5% á framfæti, 5% á baki og lend og 3% á hala.

Lítill eða engin merki sáust um nudd eða breytingar í húð gripa sem voru með lúsasýkingu. Eigendur voru þess ekki áskynja að lýs væru á gripum þeirra. Naglúsin var álíka algeng og í nágrannalöndum en soglúsin var mun algengari hér. Þar finnast þó oftast fleiri soglúsategundir.

Húðsýnarannsókn (húðmítlaleit) náði til 55 sláturgripa, að hámarki þriggja kúa og þriggja ungneyta á hverjum 10 bæja á SV-landi. Sýni voru tekin úr eyra, augnlokum, hnakka, nára og halarót, leyst upp í 10% NaOH, botnfelld í skilvindu og leitað að mítlum í botnfallinu.

Aðeins ein tegund fannst, háarsekkjamítillinn *Demodex bovis*, á hálsi á einum grip. Mítillinn hafði ekki fundist áður hér á landi. Ekki sáust merki um breytingar í húð af völdum mítla.