

2. Rannsóknir í veiru-, ónæmis- og sameindalíffræði

Áhrif Sulforaphane á mæði-visnuveiru sýkingu í makrófögum

Starfslið: Stefán R. Jónsson og Valgerður Andrésdóttir.
Samstarf: Carlos de Noronha, Albany Medical College, SUNY, Albany, NY.
Upphaf: 2015. Lok: Óviss.

Sulforaphane (SFN) er efni sem finnst í ýmsum kálplöntum, mest í spergilkáls-spírum, og virkjar Nrf2, sem aftur stýrir tjáningu á ýmsum próteinum sem eru mikilvæg í andoxunarferlum. Carlos de Noronha og samstarfsfólk við Albany Medical College hefur sýnt fram á að SFN meðhöndlun hindrar HIV-1 sýkingu í makrófögum í gegnum Nrf2. Þessi áhrif sjást hins vegar ekki í T-frumum. Við athuguðum áhrif SFN á mæði-visnuveirusýkingu og benda fyrstu niðurstöður til að SFN meðhöndlun hindri sýkingu í makrófögum en hafi mun minni áhrif í SCP frumum.

Hlutverk Vif í lentiveirum

Starfslið: Stefán Ragnar Jónsson, Tim Aberle, Morgane Méras, Diana Rubene, Alvaro Garces Cardona, Sólveig Rán Stefánsdóttir og Valgerður Andrésdóttir.
Samstarf: Reuben S. Harris, University of Minnesota; Nevan Krogan og Joshua Kane, University of California, San Francisco, Yong Xiong, Yale University, Ólafur S. Andrésson, líf- og umhverfisvísindadeild Háskóla Íslands.
Upphaf: 2000. Lok: Óviss.

Á síðustu árum er sífellt að koma betur í ljós að lífverur hafa komið sér upp ýmsum vörnum gegn veirusýkingum. Veirurnar hafa á hinn bóginn fundið leiðir fram hjá þessum vörnum hver í sínum hýsli. Lentiveirur eins og mæði-visnuveira og HIV hafa próteinið Vif, sem er nauðsynlegt til þess að veirurnar geti sýkt markfrumur sínar. Sýnt hefur verið fram á að Vif miðlar niðurbroti próteinsins APOBEC3, sem er eitt af veiruvörnarpóteinum frumunnar. Núverandi rannsóknir beinast einna helst að tengingu Vif við þau prótein frumunnar sem taka þátt í að miðla niðurbroti APOBEC3 og greiningu þeirra amínósýra sem mikilvægar eru fyrir próteintengsl.

Rannsóknir okkar á Vif próteininu hafa einnig leitt í ljós að þetta er ekki eina virkni Vif. Vif prótein bæði mæði-visnuveiru og HIV-1 binst einnig öðrum veiruhindra sem nefnist SAMHD1. SAMHD1 er meðal annars tjáð í makrófögum, og hafa HIV-2 og ýmsar apalenteveirur sérstakt prótein, Vpx, sem miðlar niðurbroti SAMHD1. Vpx próteinið er ekki í HIV-1, og hingað til hefur ekki verið vitað hvernig HIV-1 kemst fram hjá SAMHD1 í makrófögum. Niðurstöður okkar benda til að mæði-visnuveira og HIV-1 noti Vif til að ráða niðurlögum SAMHD1.

Hlutverk sjálfsáts í mæði-visnuveirusýkingu

Starfslið: Stefán R. Jónsson og Valgerður Andrésdóttir.
Samstarf: Margrét Helga Ögmundsdóttir, læknadeild Háskóla Íslands.
Upphaf: 2015. Lok: Óviss.

Sjálfsát (autophagy) er mikilvægt ferli í ónæmissvari og hefur stýring á sjálfsáti verið tengd við ýmsar veirusýkingar þar á meðal í HIV. Við lituðum fyrir LC3, sem er merkiprótein fyrir sjálfsát, í kinda-makrófögum sýktum með mæði-visnuveiru (MVV). Niðurstöðurnar benda til að slík stýring sé líka til staðar í mæði-visnuveiru. Kinda makrófagar sýktir með MVV sýna að í upphafi sýkingar verður aukning á sjálfsáti, en á þriðja degi sýkingar verður tímabundin hindrun. Þessi hindrun er Vif háð þar sem veira án Vif sýnir ekki sömu hindrun. Einnig sýndi samónæmisfelling að MVV Vif bindur LC3 próteinið. Þessar niðurstöður benda til áður óþekktar virkni Vif, sem við munum rannsaka frekar.

Rannsóknir á coronaveirum í búfé

Starfslið: Vilhjálmur Svansson og Heiða Sigurðardóttir.
Samstarf: Auður Lilja Arnþórsdóttir og Sigríður Björnsdóttir, Matvælastofnun Íslands, Kees van Maanen, Royal GD, Hollandi.
Upphaf: 1998.

Coronaveirur eru þekktir smitvaldar í fjölda dýrategunda og valda fjölbreyttum einkennum frá mismunandi líffærakerfum svo sem öndunar- og meltingarvegi, lifur og miðtaugakerfi. Coronaveirur eru kápuklæddar veirur vanalegast um 100 - 120 nm að stærð. Erfðaefnið er einstengja +RNA. Coronaveirur hafa einkennandi útlit við skoðun í rafeindasmásjá en úr kápunni standa 20 nm yfirborðstittir (spikes) og þykir útlitið minna á geislahjúp sólarinnar (corona).

Veirum í coronaviridae fjölskyldunni er deilt í tvær undirfjölskyldur, leto-virinae: veirur sem sýkja skriðdýr og orthocoronavirinae sem sýkja spendýr og fugla. Orthocoronavirinae undirfjölskyldan deilist í 4 ættkvíslir, alpha-, beta-, delta- og gammaveirur sem aftur er skipt í 26 undirættkvíslir. Flestar coronaveirur sem sýkja menn og spendýr teljast til alpha- eða betacoronaveira. Hérlandis þekkjast sýkingar með betacoronaveirum í nautgripum, hrossum og alphacoronaveirum í köttum. Veiruskita í kúm (winter dysentery of adult cattle virus) er velþekktur sjúkdómur hérlandis í nautgripum sem garnasæknir stofnar af nauta-coronaveirum (enteric bovine coronavirus) valda. Fátt er vitað hvort nauta-coronaveirustofnar sem valda öndunar-færa og garnasýkingum í kálfum finnast hérlandis. Nýlega var staðfest að hestacoronaveiran (Equine coronavirus) er landlæg hér í hestum. Afturvirkar sermisfræðilegar rannsóknir, þar sem notast var við efnivið úr lífsýnabanka íslenska hestsins sýna að veiran barst fyrst hingað til lands í ársbyrjun 1998 og orsakaði faraldur hitasóttar í hrossum. Rannsóknir á coronaveirum í nautgripum og hestum á Keldum beinast að faraldursfræði sýkinga, uppsetningu greiningaraðferða og skoðun á stofnabreytileika.

Í tengslum við alheimsfaraldur SARS-CoV-2 í mönnum var strax byrjun faraldursins komið upp rauntíma-PCR prófi til greininga á mögulegum sýkingum með veirunni í dýrum. En rannsóknir höfðu sýnt að dýr af katta- og marðarættum auk hunda gátu smitast og mögulega smitað út frá sér. Á annaðhundrað sýni hafa verið prófuð fyrir veirunni, nánast öll úr minkum, og hafa þau öll reynst vera neikvæð.

Rannsóknir á herpesveirusýkingum í hestum

Starfslið: Vilhjálmur Svansson, Sigurbjörg Þorsteinsdóttir, Lilja Þorsteinsdóttir, Sara Björk Stefánsdóttir og Sigríður Jónsdóttir.

Upphaf: 1999.

Þekktar eru 5 herpesveirusýkingar í hrossum þ.e. alfaherpesveirurnar equine herpesvirus type 1 (EHV-1), EHV-3 og EHV-4, og gammaherpesveirurnar EHV-2 og EHV-5. Frumsýkingar með EHV-1 og EHV-4 eiga sér stað um öndunarveg en auk þess að valda öndunarfærasýkingum veldur EHV-1 einnig fósturláti og lömumum og telst með alvarlegri veirusýkingum í hrossum. Sýkingar með EHV-1 hafa ekki greinst hérlandis. EHV-3 veiran smitast við kynmök og veldur útbrotum á kynfærum. Sýkingar með EHV-2 og EHV-5 eru vanalegast einkennalausar öndunarfærasýkingar en væg einkenni, kvefs og hvarmabólgu geta sést hjá folöldum. Ekki er vitað hvenær þær 4 herpesveirugerðir sem hér er að finna í hrossum bárust til lands. Í ljósi þess hvernig herpesveirur viðhaldast í stofnum með dulþýkingum má að ætla að allar veirugerðirnar hafa borist með hrossum sem voru flutt inn til Íslands í upphafi byggðar.

Núverandi rannsóknir beinast að því að setja upp ýmsar aðferðir til greininga á sýkingum með veirum auk þess að skoða faraldursfræði veiranna, sýkingaferla og ónæmisviðbrögð.

Á árinu varði Lilja Þorsteinsdóttir doktorsritgerð sína um rannsóknir á herpesveirusýkingum í hrossum á Íslandi (*Equine herpesviruses in Iceland: Course of infection and immune response against gammaherpesviruses type 2 and 5, and isolation of an alphaherpesvirus, type 3*).

Verkefnið er styrkt af Rannsóknasjóði Rannís, Rannsóknasjóði Háskóla Íslands, Stofnverndarsjóði íslenska hestsins, Þróunarfráttarnefnd hrossaræktarinnar og Framleiðnisjóði landbúnaðarins.

Rannsóknir á riðu í sauðfé

Starfslið: Stefanía Þorgeirsdóttir og Eva Hauksdóttir.

Samstarf: Matvælastofnun.

Upphaf: 1995.

Riða í sauðfé flokkast undir prionsjúkdóma, öðru nafni smitandi heilahrörnun (Transmissible spongiform encephalopathy; TSE), en um er að ræða ólæknandi taugasjúkdóma sem ekki er hægt að bólusetja gegn. Sambærilegir sjúkdómar finnast í geitum, nautgripum (BSE) og hjartardýrum (CWD), en einnig í mönnum (t.d. Creutzfeldt-Jakob sjúkdómur). Prionsjúkdómar draga nafn sitt af svokölluðu príonpróteini, sem finnst á eðlilegu formi í öllum spendýrum en á umbreyttu formi getur það orðið smitandi, þolið gagnvart niðurbroti og safnast upp, einkum í heilavef, þar sem einkennin koma fram sem truflun á taugaboðum.

Á Íslandi hefur riða lengi verið vandamál í sauðfjárrækt, sérstaklega á Norðurlandi þar sem sjúkdómurinn kom fyrst upp og er þar enn landlægur á ákveðnum svæðum. Önnur svæði á landinu hafa einnig fengið sinn skerf í gegnum tíðina en nokkur svæði hafa alltaf verið riðufrí, sem má m.a. þakka varnargirðingum, sem ásamt náttúrulegum hindrunum, skipta landinu í varnarhólf (nú 26). Frá árinu 1978 hefur skipulega verið reynt að útrýma riðusjúkdómnum hér á landi, fyrst með niðurskurði á fé, en síðar bættist við sóttþreinsun útihúsa og nokkurra ára fjárlaust tímabil. Ekki hefur tekist að útrýma sjúkdómnum með þessum aðgerðum en tilfellum hefur fækkað mikið frá því sem mest var. Nú greinast yfirleitt örfá tilfelli á ári og stundum er

eingöngu um Nor98 riðu að ræða, sem er óhefðbundið afbrigði riðu, sem er talið sjálfsprottið án utanaðkomandi smits. Ekki er þörf á niðurskurði á bæjum þar sem Nor98 riða greinist líkt og í tilfellum hefðbundinnar riðu.

Á Keldum hefur frá árinu 1995 verið rannsakað samband arfgerða þríongensins við riðusmit í sauðfé, en náttúrulegur breytileiki í þríongeninu er mikilvægur fyrir næmi kinda fyrir riðu. Mismunandi samsætur í táknum 136, 154 og 171 tengjast áhættu (VRQ) og minnkuðu næmi (AHQ) fyrir hefðbundinni riðu í íslensku fé en samsætan sem er þekkt erlendis vegna mest verndandi eiginleika (ARR) hefur ekki fundist hér á landi. Verkefnið felur í sér vöktun á arfgerðum þríongensins í kindum sem greinast með riðu, en auk jákvæðra kinda eru til samanburðar prófaðar einkennalausar kindur úr riðuhjörðum. Tvö jákvæð tilfelli hafa verið staðfest með þá arfgerð sem upphaflega var talin geta veitt vernd gegn riðu í íslensku fé (AHQ). Í þeim tilvikum var um einkennalausar kindur að ræða (sláturhúsasýni og niðurskurðarsýni). Þetta bendir til að sú arfgerð gefi ekki þá vernd sem áður var talið. Þessi arfgerð er algeng í tilfellum Nor98 riðu, en þar snýst áhættan við hvað varðar smitnæmi arfgerða.

Á árinu 2020 var lokið við arfgerðagreiningu sýna úr niðurskurði frá bænum Grófgargili í Skagafirði þar sem hefðbundin riða hafði greinst í febrúar það ár. Af 107 niðurskurðarsýnum (NS) reyndust þrjú vera jákvæð fyrir riðusmiti. Í **töflu 1** má sjá samantekt á arfgerðum þessara sýna auk vísisýnis hjarðarinnar, þ.e. þess sýnis sem greindist fyrst (index sample). Jákvæðu sýnin fjögur voru með svokallaða hlutlausar arfgerð eins og helmingur neikvæðu sýnanna. Hinn helmingur niðurskurðarsýnanna var annars vegar með arfgerð sem sýnir aukna áhættu (37,5%) og hins vegar með arfgerð sem tengist minnkuðu næmi fyrir hefðbundinni riðu (12,5%).

Riða greindist á fimm bæjum til viðbótar síðla árs 2020, sjá nánar í þjónustu-kafla vegna riðu. Vísisýnin hafa verið arfgerðagreind og reyndust þau öll bera sömu arfgerð m.t.t. tákna 136 og 154, þ.e. AR/AR.

Tafla 1: Arfgerðir vísisýnis (1) og niðurskurðarsýna (107) frá Grófgargili.

136	154	Arfgerð	Jákvæð	%	Neikvæð	%	Athugasemd
A/A	R/R	AR/AR	4	100	52	50	hlutlaust
A/V	R/R	AR/VR	0	0	35	33,7	aukin áhætta
V/V	R/R	VR/VR	0	0	4	3,8	aukin áhætta
A/A	R/H	AR/AH	0	0	13	12,5	minnkað næmi
Samtals			4	100	104	100,0	

Samanburður á erfðamengjum íslenskra nýrnaveikibakteríustofna við stofna sem hafa greinst í Norður-Ameríku og Evrópu

Starfslið: Birkir Þór Bragason, Sigríður Hjartardóttir, Snorri Már Stefánsson og Árni Kristmundsson.

Upphaf: 2020.

Nýrnaveikibakterían *Renibacterium salmoninarum* (Rs) er Gram-jákvæð baktería sem tilheyrir *Renibacterium* ættkvíslinni og er eina tegundin innan hennar. Rs er landlæg í íslenskum vatnakerfum og laxfiskum, en veldur ekki sjúkdómi nema við eldisaðstæður. Erfðamengi Rs er að jafnaði um 3 Mbp og hafa stofnar hennar verið einangraðir og heilraðgreindir úr sýktum fiski í Norður-Ameríku og Norður-Evrópu. Þessi rannsókn var

framkvæmd til að fá innsýn í breytileika innan íslenskra Rs stofna, sem og skyldleika þeirra við erlenda stofna.

Erfðaefni var einangrað úr 8 Rs stofnum sem varðveittir eru í lífsýnasafni Keldna og heilraðgreint hjá *BGI genomics*. Heilraðgreiningargögn fyrir 68 erlenda Rs stofna voru fengin í gagnabanka *European Nucleotide Archive*. Heilraðgreiningargögn stofnanna var raðað á viðmiðunarerfðamengi Rs, sem fengið var á vef *National Center for Biotechnology Information*. Íslensku Rs stofnarnir skáru sig úr þegar erfðamengi þeirra var borið saman við stofna frá bæði N-Ameríku og N-Evrópu. Erfðamengi íslensku stofnanna var líkast stofnum sem einangraðir voru í Noregi og eru taldir endurspeglar erfðamengi stofna sem voru til staðar í villtum fiskistofnum við Austur-Atlantshaf fyrir upphaf fiskeldis.

Sjúkdómsvaldandi Rs stofnar í eldisfiski á Íslandi, eins og þeir sem rannsakaðir voru í þessu verkefni, eru m.a. taldir berast úr grunnvatni sem notað er til eldisins. Erfðamengi þeirra ætti þ.a.l. að endurspeglar erfðamengi villtra, landlægra, Rs stofna á Íslandi. Fyrstu niðurstöður verkefnisins benda til að hér hafi þróast sérstakur Rs stofn.

Sumarexem í hrossum, þróun ónæmismeðferðar

- Starfslið: Sigurbjörg Þorsteinsdóttir, Vilhjálmur Svansson, Sara Björk Stefánsdóttir, Sigríður Jónsdóttir, Ragna Brá Guðnadóttir, Ólöf Sigurðardóttir, Guðbjörg Jónsdóttir og Eygló Gísladóttir.
- Samstarf: Eliane Marti, dýrasjúkdómadeild Háskólans í Bern, Sviss; Bettina Wagner dýrasjúkdómadeild Háskólans í Cornell, Íþöku, USA; Sigríður Björnsdóttir Matvælastofnun; Jón Már Björnsson og Arna Rúnarsdóttir ORF Líftækni; Sveinn Steinarsson formaður Félags Hrossabænda, Þorvaldur Kristjánsson ábyrgðarmaður í hrossarækt hjá Ráðgjafamiðstöð landbúnaðarins.
- Upphaf: 2000.

Sumarexem er húðofnæmi í hestum orsakað af IgE miðluðum viðbrögðum gegn biti smámýs sem lifir ekki á Íslandi, en tíðni sjúkdómsins er mjög há í útfluttum hestum. Sumarexemverkefnið er samvinnuverkefni milli Keldna og dýrasjúkdóma-deildar háskólans í Bern í Sviss og er markmið þess þríþætt: I. Finna og greina próteinin sem valda ofnæminu. II. Rannsaka ónæmissvarið og feril sjúkdómsins. III. Þróa ónæmismeðferð, forvörn með því að sprauta hesta með hreinsuðum ofnæmis-vökum í ónæmisglæði og afnæmingu um slímhúð munns með byggi sem tjáir ofnæmisvaka. Afnæming um slímhúð er einnig í samstarfi við Bettinu Wagner á Dýrasjúkdómadeild Háskólans í Cornell, Íþöku. Nánar um verkefnið, tildrög, fræðilegan bakgrunn, útskrifaða nema og birtar greinar má finna á heimasíðu Keldna http://keldur.is/sumarexemsrannsoknir_0

Fjölmargir ofnæmisvakar úr smámýi hafa verið einangraðir og aðalofnæmis-vakar kortlagðir með örflögutækni. Exemið er ofnæmissvörun á Th2 braut með framleiðslu á IgE mótefnum og ójafnvægi milli undirflokka T-fruma virðist vera undirliggjandi orsök. Í forrannsókn hefur tekist að Th1 miða ónæmissvar í hestum með því að sprauta hreinsuðum ofnæmisvökum í ónæmisglæðablöndu í eitla. Eina leiðin til að prófa endanlega hvort að bólusetning virkar, er að gera áskorun (challenge). Áskorunartilraun felst í því að bólusetja hóp hesta og útsetja þá síðan fyrir flugunni á flugusvæðum erlendis. Hrossin eru höfð óvarin í 3 ár, skoðuð reglulega og fylgst með ónæmissvari þeirra. Áskorunartilraun hófst 2019.

Tuttugu og sjö hross voru bólusett þrisvar sinnum á fjögurra vikna fresti og blóðsýni tekin fyrir bólusetningu, tveimur vikum eftir hverja bólusetningu og fyrir útflutning. Fyrsta bólusetning var gerð í desember 2019 og sú þriðja í febrúar 2020. Hestarnir voru fluttir út 15. mars 2020. Í Sviss eru hestarnar skoðaðir og tekið úr þeim blóð reglulega.

Fimm ofnæmisvakar úr *Culicoides* hafa verið tjáðir í byggi (Culn2-4, Culn8 og Culo3) og tveir eru í framleiðslu (Culo2hya og Culo2p). Vakur framleiddir í byggi reynast ekki síðri í ónæmisprófum en vakur framleiddir í *E. coli* og skordýrafrumum. Aðferð hefur verið þróuð til að meðhöndla hross með endurröðuðu byggmjöli um slímhúð munns. Heilbrigðir hestar meðhöndlaðir með endurröðuðu byggi mynduðu ofnæmisvakasérhæfð mótefni sem gátu að hluta hindrað IgE bindingu við ofnæmis-vakann. Af ýmsum ástæðum hefur ekki reynst unnt að hefja meðhöndlun með byggi á hestum með sumarexem.

Í tengslum við meðhöndlun um slímhúð munns er verið að kortleggja ónæmisfrumur í kjafti hrossa og er unnið að handriti úr þeim niðurstöðum.

Verkefnið er styrkt af Rannsóknasjóði Rannís, Rannsóknasjóði Háskóla Íslands, Stofnverndarsjóði Íslenska hestakynsins og Náttúruverndarsjóði Pálma Jónssonar.