

ESPRESSIONE DELLA PROTEINA CAPSIDICA DI UN CEPPO ITALIANO SUINO DI EPATITE E

Ilaria Di Bartolo (a), Eleonora Ponterio (a), Nadia Inglese (b), Francesca Martelli (b), Andrea Caprioli (c), Fabio Ostanello (d), Franco Maria Ruggeri (a)

(a) Dipartimento Sanità Pubblica Veterinaria e Sicurezza Alimentare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

(b) Virology Department, Veterinary Laboratories Agency, New Haw, Weybridge, Surrey, KT15 3NB, United Kingdom

(c) Istituto Zooprofilattico Sperimentale del Lazio e della Toscana, Roma

(d) Dipartimento di Sanità Pubblica Veterinaria e Patologia Animale, Università degli Studi, Bologna, Ozzano Emilia, Bologna

L'Epatite E è una malattia infettiva con caratteristiche cliniche di epatite acuta. L'agente eziologico responsabile è il virus dell'Epatite E (Hepatitis E virus, HEV), attualmente classificato nel genere Hepevirus. L'HEV è un virus a RNA monocatenario, e il genoma codifica per le proteine non strutturali (ORF1), la proteina capsidica maggiore (ORF2) e per una proteina con funzioni non note (ORF3). La malattia è considerata endemica nei paesi in via di sviluppo, dove causa epidemie generalmente associate al consumo di acqua contaminata. Inizialmente i casi di HEV in adulti nei paesi industrializzati erano associati a pazienti con una storia recente di viaggi all'estero. Di recente, casi sporadici di origine autoctona sono stati descritti in diversi paesi industrializzati, compresa l'Italia. Il virus è stato identificato in diversi animali domestici (suino) e selvatici (cervidi, cinghiale). Una possibile origine zoonotica con trasmissione del virus dal suino all'uomo è suggerita da evidenze epidemiologiche e virologiche.

Ad oggi non esiste un sistema cellulare per la crescita del virus in vitro, limitando conseguentemente gli studi sulla patogenesi e immunologia di HEV.

La proteina del capsido virale di un ceppo di HEV suino, identificato in Italia, è stata clonata ed espressa nel sistema ricombinante di Baculovirus. L'RNA totale è stato estratto da un campione di bile di un suino clinicamente sano (positivo per HEV) e utilizzato per sintetizzare il cDNA mediante trascrizione inversa a partire dalla regione poliA del genoma virale. Il cDNA è stato utilizzato in una reazione di PCR con i primers FA111ORF2-RORF2 disegnati al fine di amplificare un frammento corrispondente a una delezione dei primi 111 aa, della regione capsidica (ORF2) di HEV. Questo è stato successivamente clonato nel vettore pfastBAC per l'espressione con il sistema di Baculovirus in cellule di insetto Sf9.

La presenza della ORF2 all'interno del bacmide e il suo corretto frame di lettura sono stati confermati mediante analisi di sequenza. La proteina è stata inoltre utilizzata per produrre sieri policlonali e anticorpi monoclonali murini.