

dr Aneta Pluta

Dział Wirusologii i Chorób Wirusowych Zwierząt

Identyfikacja nowych promotorów polimerazy RNA III w klastrze miRNA wirusa białaczki bydła



Puławy, dn. 27.03.2026

Badania statutowe BLV: od mapowania promotorów do praktyki diagnostycznej

projekty realizowane w ramach

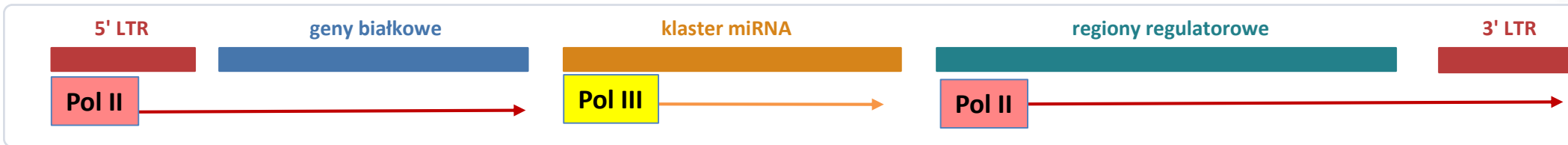
subwencji na utrzymanie i rozwój potencjału badawczego:

1. „Analiza molekularna izolatów terenowych BLV w aspekcie zmienności genów/regionów regulatorowych odpowiedzialnych za infekcyjność i replikację wirusa”. Okres realizacji : 2022-2024 r.
2. „Określenie zdolności do replikacji i patogenności wirusa enzootycznej białaczki bydła (BLV) należącego do różnych genotypów i podtypów występujących w Polsce i Europie”. Okres realizacji: 2024-2027 r.

Główna teza

Mutacje w motywach promotorowych i regulatorowych regionu LTR i klastra miRNA BLV nie są tylko opisem sekwencji - mogą zmieniać ekspresję białek tego wirusa i cząstek miRNA, wpływać na replikację i utrudniać diagnostykę wariantów terenowych.

BLV wykorzystuje dwa odrębne moduły transkrypcyjne



Moduł 1 · Pol II / LTR

- ✓ ekspresja genów białkowych BLV zależy od promotorów i enhancerów w LTR
- ✓ Merezak et al. (2001) wykazał, że pojedyncze mutacje w enhancerach CRE mogą zmieniać aktywność promotora, transkrypcję i replikację wirusa
- ✓ to pokazuje, że BLV optymalizuje regulatory transkrypcji pod kątem przeżycia w gospodarzu

Moduł 2 · Pol III / klaster miRNA

- ✓ od 2013 r. wiadomo, że BLV wykorzystuje Pol III do transkrypcji wirusowych miRNA (Rosewick et al.) - obficie wyrażanych w komórkach gospodarza
- ✓ Burke et al. (2015) zidentyfikował kilka promotorów Pol III typu A-box i B-box dla jednostek pre-miRNA
- ✓ Gillet et al. (2016) wykazał, że usunięcie regionu miRNA wyraźnie osłabia replikację wirusa *in vitro* oraz *in vivo*

BLV jest retrowirusem, który po zakażeniu integruje swój materiał genetyczny z genomem gospodarza w postaci prowirusa; następnie może pozostawać w stanie latencji i replikować się na niskim poziomie, a zaburzenia odporności mogą sprzyjać jego aktywacji.

Realizacja

- ✓ izolacja DNA z krwi krów zakażonych BLV z Polski
- ✓ sekwencjonowanie regionu LTR i regionu kodującego miRNA, analiza mutacyjna sekwencji
- ✓ badanie związku między mutacjami w regionach regulatorowych LTR a liczbą kopii wirusa wykrywaną qPCR

Problem interpretacyjny

- ✓ w sekwencjach miRNA widoczne były mutacje i hot spoty
- ✓ ale brakowało pełnej mapy promotorów Pol III w tym locus
- ✓ bez tej mapy nie dało się odróżnić zmian ważnych od neutralnych

Dlaczego trzeba było wrócić do architektury promotorów?

LTR i Pol II były już dobrze opisane — wiadomo, gdzie leżą promotory i enhancery genów białkowych BLV.



Dla klastru miRNA było wiadomo, że transkrypcja zależy od Pol III, ale część motywów była trudna do odnalezienia.



Autorzy wcześniejszych prac sugerowali, że istnieją dodatkowe motywy wymagające dalszych badań.



Dlatego pełna mapa promotorów była warunkiem poprawnej interpretacji mutacji izolatów BLV z Polski.

Jak szukaliśmy promotorów Pol III



Metodyka: najpierw wyznaczyliśmy sekwencje konsensusowe motywów promotora Pol III dla poszczególnych gatunków, a następnie na ich podstawie opracowaliśmy macierze wag pozycyjnych (PWM), które posłużyły do skanowania sekwencji BLV i umożliwiły wyszukanie zdegenerowanych wariantów tych motywów w klastrze miRNA BLV.

Nowa mapa promotorów Pol III

Wcześniejszy model



Nasza mapa



- ✓ w każdej jednostce wykryliśmy co najmniej trzy nakładające się A-box-like
- ✓ B-box-like lokalizowały się za terminatorem Pol III
- ✓ organizacja miejsc promotorowych jest niekanoniczna ale wysoce zachowawcza ewolucyjnie
- ✓ krytyczne pozycje regulatorowe pozostały silnie konserwatywne



Fig. 3 Organization of RNA polymerase III promoter motifs in the miRNA cluster of BLV. The schematic illustrates the distribution of A-box-like and B-box-like motifs across the cluster.

Polskie izolaty terenowe

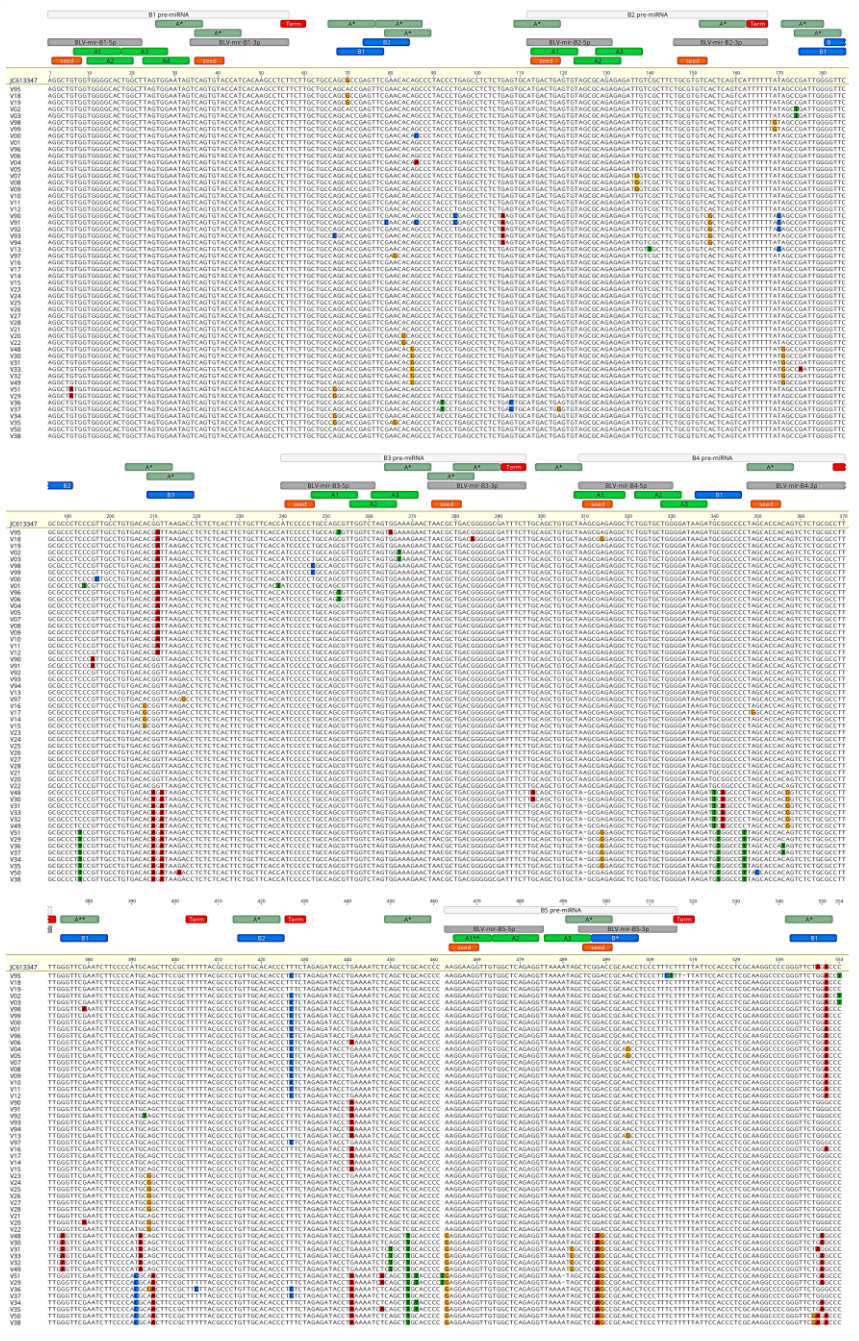
Najważniejsze obserwacje sekwencyjne

- ✓ 53 sekwencje locus miRNA BLV z Polski porównano z sekwencją referencyjną BLV 344
- ✓ wykryto 84 miejsca polimorficzne; 61 z nich (72,6%) leżało w regionach regulatorowych
- ✓ najczęściej zmian przypadło na A*-box i B-box
- ✓ do testów funkcjonalnych wybrano 7 izolatów terenowych o odmiennych profilach mutacji: V03, V09, V18, V29, V90, V96 i V99 + referencję

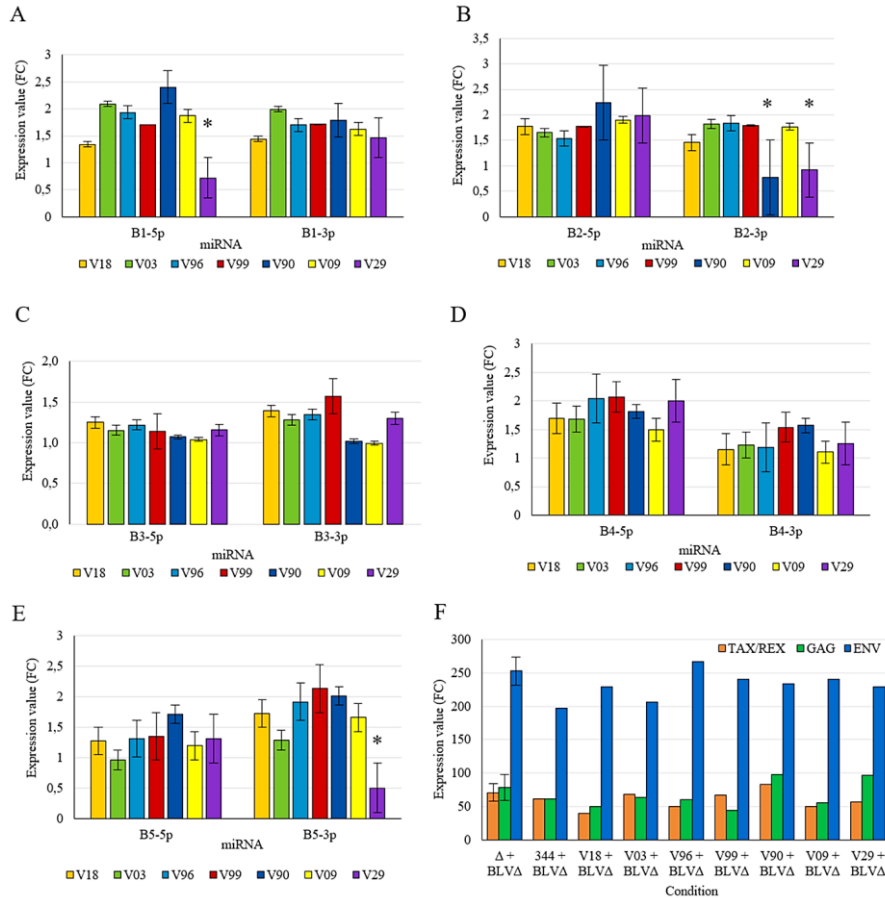
Rozkład polimorfizmów w obrębie motywów regulatorowych

Klucz interpretacyjny

Dopiero po nałożeniu pełnej mapy promotorów było widać, które mutacje trafiają w potencjalnie ważne pozycje promotorów, a które leżą w bardziej zmiennych peryferiach motywów.



Czy mutacje zmieniają ekspresję miRNA?



Wniosek z badania ekspresji:

- ✓ **V29**: najwięcej zmian promotorowych; istotnie niższa ekspresja miR-B1-5p, miR-B2-3p i miR-B5-3p, co istotnie V29 miał też najniższą liczbę kopii prowirusa w porównaniu z pozostałymi 6 wariantami
- ✓ **V90**: istotnie niższa tylko miR-B2-3p
- ✓ pozostałe warianty: bez istotnych różnic względem referencji
- ✓ pojedyncza mutacja nie zawsze daje efekt funkcjonalny

Interpretacja

Pojedyncze mutacje mogą być kompensowane przez potrójne promotory. Silniejszy efekt pojawia się, gdy zmiany kumulują się w kilku kluczowych elementach.

Ekspresja względna 10 cząstek miRNA BLV pochodzących z 7 wybranych izolatów terenowych po transfekcji komórek plazmidami zawierającymi klaster kodujący te miRNA

Znaczenie praktyczne

Warianty sekwencyjne w regionach regulatorowych mogą zmieniać aktywność wirusowych miRNA, a więc wpływać także na namnażanie się wirusa, poziom kopii prowirusa i skuteczność rozpoznawania zakażeń BLV.

1. Diagnostyka

- ✓ warianty o słabszej aktywności miRNA mogą współwystępować z niższym ładunkiem prowirusa (PVL)
- ✓ to zwiększa ryzyko trudniejszych przypadków wykrywania i interpretacji wyników
- ✓ monitorowanie mutacji regulatorowych ma znaczenie praktyczne
- ✓ to są dane potrzebne do oceny ryzyka biologicznego

2. Nadzór molekularny

- ✓ mapowanie mutacji w LTR i locus miRNA lepiej charakteryzuje warianty terenowe
- ✓ pokazuje, z jakim typem wirusa mamy do czynienia i jakich cech się spodziewać
- ✓ kolejny krok to łączenie sekwencji regulatorowych z ekspresją miRNA i PVL

BMC Journals have moved to Springer Nature Link. [Learn more about website changes.](#)

Find a journal Publish with us Track your research Search

Home > BMC Genomics > Article

Identification of novel RNA polymerase III promoters in bovine leukemia virus miRNA cluster by cross-taxa analysis of small non-coding RNAs

Research | Open access | Published: 06 October 2025
Volume 26, article number 882, (2025) [Cite this article](#)

You have full access to this open access article

[Download PDF](#) [Save article](#)

Aneta Pluta & Casey Droscha

911 Accesses 15 Altmetric 2 Mentions [Explore all metrics](#)

[Sections](#) [Figure](#)
[Abstract](#)

[Aims and scope](#)
[Submit manuscript](#)

Dziękuję za uwagę



www.piwet.pulawy.pl